



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

JOÃO MARCOS DA SILVA COSTA

**Estudo da Atividade Microbiológica da Madeira de *Hymenolobium petraeum*
Ducke (angelim pedra)**

RECIFE

2024

JOÃO MARCOS DA SILVA COSTA

**Estudo da Atividade Microbiológica da Madeira de *Hymenolobium petraeum*
Ducke (angelim pedra)**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado na Disciplina Trabalho de Conclusão de Curso 2 como parte dos requisitos para conclusão do curso de Graduação em Ciências Farmacêuticas, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Pernambuco.

Orientadora: Profa. Dra. Andréa Lopes
Bandeira Delmiro Santana

Co-orientador: Dr. Erik Jonne Vieira de
Melo

RECIFE

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Silva Costa , João Marcos da .

Estudo da Atividade Microbiológica da Madeira de *Hymenolobium petraeum*
Ducke (angelim pedra) / João Marcos da Silva Costa . - Recife, 2024.
46 : il., tab.

Orientador(a): Andréa Lopes Bandeira Delmiro Santana

Coorientador(a): Erik Jonne Vieira de Melo

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Farmácia - Bacharelado, 2024.

1. Microbiologia. 2. Extratos vegetais. 3. Antibióticos. I. Santana , Andréa
Lopes Bandeira Delmiro. (Orientação). II. Melo, Erik Jonne Vieira de.
(Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

JOÃO MARCOS DA SILVA COSTA

**Estudo da Atividade Microbiológica da Madeira de *Hymenolobium petraeum*
Ducke (angelim pedra)**

Trabalho de Conclusão de Curso,
apresentado na Disciplina Trabalho de
Conclusão de Curso 2 como parte dos
requisitos para conclusão do curso de
Graduação em Ciências Farmacêuticas,
do Centro de Ciências da Saúde, da
Universidade Federal de Pernambuco.

Recife, ____ de Janeiro de 2024

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Andréa Lopes Bandeira Delmiro Santana
(Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Erik Jonne Vieira de Melo
(Co-orientador)
Universidade Federal Pernambuco

Profa. Dra. Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim
(Presidente e Examinadora)
Universidade Federal de Pernambuco

MSc. e Bióloga Nínive Bezerra Florêncio

(Examinadora)

Universidade Federal de Pernambuco

Farmacêutico e Mestrando Azael Francisco Silva Neto

(Suplente)

Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

“Gratidão, integridade, honestidade, papo reto e só visão. Eu sei que toda glória vai ser dada a Deus, mas não posso esquecer daquele que me deu a mão. Daqueles, porque foi mais de um. Sem eles, lugar nenhum...”

Agradeço a minha mãe, Dona Madalena, que sempre me apoiou nas minhas ideias desde de criança e ao meu pai, Seu Marcos, que foi uma base para mim. Sem a luta e o carinho deles eu nunca teria chegado onde cheguei.

Agradeço aos meus parentes, Atílio, Ângelo, Heitor, Helloisa, Tia Mônica, Tio Eliel, Domícia, Kelysson e Tia Dilma por terem me incentivado e ajudado durante a minha caminhada.

Agradeço a: Tamirys, José, Anna Victória, Sueli, Marcinho, Murilo, Melize, Val, Kelly, Regina, Kássia e Débora por terem compartilhado suas experiências e escutado minhas reclamações.

Agradeço aos amigos que fiz durante a faculdade: Carol, Guilherme, Guga, Maria Alice, Karina, Vinícius, Mayara, Maurício e Léa. Sem eles, os 5 anos de faculdade teriam sido monótonos e também eu não teria tantas boas histórias para contar.

Agradeço às pessoas que me ajudaram durante a faculdade: Carlos, Professora Márcia, Professora Norma, Professora Elba, Nínive, Jennifer, Professora Dani, Professora Eulália, Mariana, Camila, João Lima, Michael, Manuella, Monara, Azael e Elysa.

Agradeço à minha orientadora, Professora Andréa, que estendeu a mão para mim. Graças a ela, tive a experiência de ser um pesquisador.

Agradeço ao meu co-orientador, Erick, por ter me ensinado e ajudado durante o desenvolvimento do meu trabalho.

Por fim, agradeço a todos que me ajudaram de forma direta ou indiretamente nessa vida. Porque sou a soma de todas relações sociais que vivenciei.

RESUMO

Hymenolobium petraeum Ducke é uma planta arbórea que pode atingir 55 metros de altura e 2 metros de diâmetro. Sua madeira possui resistência mecânica e ao ataque de organismos xilófagos, devido a isso, é muito usada na indústria moveleira e construção civil. No entanto, existem poucos estudos sobre a atividade antibacteriana de seus extratos na literatura, uma vez que os extratos vegetais são uma alternativa para os antimicrobianos e agrotóxicos, que têm um certo custo e podem causar prejuízos ao meio ambiente. Dessa forma, é necessário avaliar a atividade antimicrobiana dos extrativos da madeira de *H. petraeum*. Para isso, foram realizados os testes microbiológicos de microdiluição em caldo com as bactérias: *E. coli*, *S. aureus* e *B. subtilis*, e fungo *C. albicans*, o teste de sinergismo checkerboard com oxacilina e atividade fungicida contra o fungo da podridão branca, *Phanerochaete chrysosporium*. Os resultados foram discutidos e relacionados com os metabólitos secundários presentes na madeira. Nos teste de microdiluição em caldo e checkerboard, não foram observados atividade antimicrobiana nas concentrações utilizadas, já no teste de atividade fungicida, os extrativos da madeira inibiram o crescimento do *P.chrysosporium*. Portanto, esse trabalho demonstrou que nas concentrações utilizadas o extrato da madeira de *H. petraeum* não tem atividade antimicrobiana para os organismos utilizados e ausência de sinergia com a oxacilina, porém apresenta atividade contra o fungo *P.chrysosporium*, isso demonstra que em perspectivas futuras o extrato seja usado no combate de fungos filamentosos fitopatogênicos. Visto que a planta tem adaptabilidade contra esses microrganismos.

Palavras-chave: microbiologia; extratos vegetais; antibióticos; *Hymenolobium petraeum* Ducke.

ABSTRACT

Hymenolobium petraeum Ducke is a tree species that can reach 55 meters in height and 2 meters in diameter. Its wood possesses mechanical resistance and resistance to attack by xylophagous organisms. Due to this, it is widely used in the furniture and construction industries. However, there are few studies on the antibacterial activity of its extracts in the literature, since plant extracts are an alternative to antimicrobials and pesticides, which have a certain cost and can cause environmental damage. Therefore, it is necessary to evaluate the antimicrobial activity of *H. petraeum* wood extracts. For this purpose, microbiological tests such as broth microdilution tests were performed with the bacteria *E. coli*, *S. aureus*, and *B. subtilis*, as well as with the fungus *C. albicans*. Additionally, a checkerboard synergy test with oxacillin and fungicidal activity against the white rot fungus, *Phanerochaete chrysosporium*, were conducted. The results were discussed and related to the secondary metabolites present in the wood. In the broth microdilution and checkerboard tests, no antimicrobial activity was observed at the concentrations used. However, in the fungicidal activity test, wood extracts inhibited the growth of *P. chrysosporium*. Therefore, this study demonstrated that at the concentrations used, the *H. petraeum* wood extract does not have antimicrobial activity against the organisms tested and shows no synergy with oxacillin. Nevertheless, it does exhibit activity against the fungus *P. chrysosporium*. This suggests that in future perspectives, the extract could be used in combating filamentous phytopathogenic fungi, considering the plant's adaptability against these microorganisms.

Keywords: microbiology; plant extracts; antibiotics; *Hymenolobium petraeum* Ducke.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	<i>Hymenolobium petraeum</i> Ducke (angelim pedra).	19
Figura 2 -	Estruturas químicas de metabólitos isolados do extrato da madeira de <i>H. petraeum</i> . (a) daidzeína, (b) coumestrol, (c) anidrotuberosina e (d) sophoracoumenstano.	20
Figura 3 -	Estrutura química isolada da madeira de <i>H. petraeum</i> , sativan.	20
Figura 4 -	Estrutura química isolada da madeira de <i>H. sericeum</i> , genisteína.	21
Figura 5 -	Foto de Cocos Gram-positivos através do microscópio óptico.	22
Figura 6 -	Foto de bactéria Gram negativa baciliforme, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , através do microscópio óptico.	24
Figura 7 -	<i>Candida albicans</i> . Pseudo-hifas, blastoconídios e clamidoconídios	26
Figura 8 -	Fungo da podridão branca <i>Phanerochaete chrysosporium</i> em seu ambiente natural, a madeira.	27
Figura 9 -	Ilustração das placas 1 e 2.	31
Figura 10 -	Ilustração do teste de checkboard na placa de 96 poços.	32
Figura 11 -	Ilustração da placa placa de petri com a serragem e os blocos de ágar.	32
Figura 12 -	Placas de petri da madeira com extrativos.	36
Figura 13 -	Placas de petri da madeira sem extrativos.	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Indicações dos solventes para extração de metabólitos secundários.	16
Tabela 2 -	Concentração inibitória mínima dos Antimicrobianos.	34
Tabela 3 -	CIM da combinação do extrato com o antibiótico.	35

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVOS GERAIS.....	13
2.1 Objetivos específicos	13
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
3.1 Química da Madeira.....	14
3.2 Família Fabaceae.....	16
3.3 Gênero <i>Hymenolobium</i>.....	18
3.4 <i>Hymenolobium petraeum Ducke</i>	18
3.5 Bactérias.....	21
3.7 Fungos.....	24
3.8 Antibiograma.....	27
4. METODOLOGIA.....	29
4.1 Preparo de Materiais.....	29
4.1.1 Preparação do Extrato.....	29
4.1.2 Preparo da Emulsão.....	29
4.1.3 Obtenção das cepas.....	29
4.2 Atividade Microbiológica.....	30
4.2.1 Teste de Microdiluição em Caldo.....	30
4.2.2 Teste de Checkerboard.....	31
4.2.3 Teste de atividade Fungicida.....	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
5.1 Teste de Microdiluição em Caldo.....	33
5.2 Teste de Checkerboard.....	34
5.3 Atividade Fungicida.....	36
6. CONCLUSÃO.....	38
REFERÊNCIAS.....	39

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, observa-se um aumento da ineficácia dos antibióticos frente a infecções bacterianas, principalmente, em ambientes hospitalares, devido ao uso indiscriminado de antibióticos, como as prescrições em excesso, erros de diagnósticos e doses e duração de tratamento inapropriado (De Carvalho, 2021).

Isso faz com ocorra a seleção de bactérias com mecanismos de resistência, que conforme o Ministro da Saúde, cerca de 70% das bactérias isoladas de hospitais são resistentes a pelo menos um antibiótico usado no dia a dia. Conseqüentemente, tornou-se um problema não apenas dentro dos hospitais, mas também fora dele (Teixeira et al., 2019).

Outro problema é o uso irracional de fungicidas na agricultura para o combate de pragas na colheita. Sabe-se que esses agrotóxicos estão envolvidos com problemas de saúde, tanto para quem é exposto diretamente quanto indiretamente, pois, apresentaram grande toxicidade, principalmente, ao nível do sistema nervoso e endócrino (Colella et al., 2022).

Além da prática responsável no uso de medicamentos, uma abordagem eficaz na prevenção do surgimento de bactérias multirresistentes e na redução do uso excessivo de fungicidas, é a incorporação de extratos vegetais na agricultura e em tratamentos medicamentosos. Essa estratégia tem raízes antigas, sendo empregada por diversas culturas ao longo da história. As plantas, ao produzirem compostos essenciais para sua autodefesa, oferecem uma valiosa fonte que pode ser explorada para o tratamento de infecções microbianas em seres humanos, animais e até mesmo nas próprias plantas (Fernandes; Dos Santos; De Souza; 2020).

Algumas plantas já são utilizadas na medicina popular para o tratamento de infecções, como *Anadenanthera sp.*, *Handroanthus impetiginosus* e *Lychnophora sp* (Martins et al, 2022). Ademais, utiliza-se óleos e extratos para o combate doenças na produção de alimentos, a exemplo do óleo de *Cinnamomum verum L* (canela) para prevenção do crescimento de *Penicillium digitatum* em laranjas pêras no pós colheita (De Souza et al. 2022).

Hymenolobium petraeum Ducke é uma planta arbórea considerada popularmente uma madeira de lei, devido não apenas a sua resistência mecânica,

mas também ao ataque de fungos e termitas. Contudo, existem poucos estudos sobre a atividade antibacteriana de seus extratos na literatura, pois a maioria dos trabalhos concentram-se em estudos de identificação dos metabólitos secundários e de resistência a organismos xilofágos.

Assim, torna-se necessário analisar a atividade antimicrobiana dos extratos provenientes da madeira de *H. petraeum*, uma potencial alternativa aos antimicrobianos e fungicidas convencionais empregados tanto na medicina, como no agronegócio. Essas substâncias não apenas acarretam custos significativos para instituições de saúde e agricultores, como também contribuem para a emergência de organismos multirresistentes e problemas de saúde. Portanto, investir em abordagens como a utilização de extrativos da madeira de *H. petraeum* pode representar uma medida preventiva crucial (De Oliveira; Do Nascimento, 2021; Domingos, 2020).

2. OBJETIVOS

Avaliar a atividade antimicrobiana dos extrativos da madeira de *Hymenolobium petraeum* Ducke.

2.1 Objetivos específicos

- Determinar a concentração inibitória mínima do extrato etanólico da madeira contra bactérias Gram positivas e negativas;
- Determinar a concentração inibitória mínima do extrato etanólico da madeira contra o fungo leveduriforme *Candida albicans* ;
- Determinar o índice de concentração inibitória fracionada do extrato etanólico da madeira contra bactérias Gram positivas;
- Avaliar a resistência da madeira frente ao fungo da podridão branca *Phanerochaete chrysosporium*;
- Relacionar a atividade microbiológica com constituintes químicos da madeira.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Química da Madeira

A madeira é uma das matérias orgânicas mais usadas no mundo, seja na construção civil, produção de combustível e fabricação de papel. Macroscopicamente, ela é formada por cerne, alburno, câmbio, casca interna e externa. A parte mais interna é o cerne, que também é mais utilizada na fabricação de móveis (Pedrazzi et al., 2019).

Quimicamente, todas as madeiras são formadas por macromoléculas de celulose, hemicelulose e lignina. O que vai diferenciá-las são as substâncias presentes em menor quantidade, os extrativos e minerais. A celulose compõe a parede celular das plantas e está associada à hemicelulose (Klock et al., 2005).

Já a lignina é uma substância amorfa responsável pela união das células e pela impermeabilização da madeira. Estruturalmente, é um macroconstituente aromático com diferentes composições, formado por unidades de fenilpropanoides. A lignina ajuda na resistência contra os microrganismos, em virtude de ser hidrofóbica, assim, quanto maior a quantidade de lignina, melhor vai ser a madeira para ser usada no ramo da alvenaria e fabricação de móveis. Além disso, essa macromolécula também melhora as propriedades mecânicas. (De Deus et al., 2022). Os extrativos e minerais apesar de estarem em pequenas quantidades na madeira, são de suma importância para o desenvolvimento vegetal (Gomes et al., 2020).

As plantas sintetizam uma ampla variedade de substâncias, incluindo os metabólitos primários, que são comuns a todas elas, e os metabólitos secundários, específicos e essenciais para a interação das plantas com o meio ambiente. Esses metabólitos secundários, também conhecidos como extrativos, englobam compostos nitrogenados (alcaloides), terpenos e compostos fenólicos, como taninos, lignanas, cumarinas e flavonoides, entre outros. Cada um desempenha um papel crucial na adaptação da planta, conferindo-lhe características distintas (Pacheco; Larissa, 2020).

Quando os vegetais enfrentam ataques de organismos vivos ou fatores abióticos, os metabólitos secundários desempenham um papel essencial na proteção da planta. Um exemplo notável é a espécie *Plutella xylostella*, que, quando atacada por larvas, produz compostos voláteis capazes de atrair predadores do

parasita (Lustre Sánchez, 2022). No contexto da defesa da madeira, os compostos fenólicos assumem uma importância significativa, pois têm a capacidade de eliminar radicais livres, inibir enzimas e interromper o processo alimentar. Destaca-se que os pterocarpanos são reconhecidos por sua atividade antialimentar em fungos fitopatogênicos (Nascimento et al., 2013).

Os metabólitos secundários representam formas de adaptação das plantas ao ambiente, e sua produção é influenciada por uma variedade de fatores externos, tais como sazonalidade, intensidade luminosa, disponibilidade de água, quantidade de nutrientes e altitude. Além disso, fatores internos também desempenham um papel significativo, uma vez que há variações na quantidade e tipo de metabólitos secundários encontrados, dependendo da idade e dos órgãos específicos da planta (Gobbo-Neto; Lopes, 2007).

Ademais, os constituintes químicos dos órgãos vegetais podem ter diferenças entre eles, mesmo sendo da mesma espécie. As partes aéreas geralmente contêm o metabólito na forma de glicosídeos, ou seja, ligado a algum carboidrato, já as partes lignificadas possuem os metabólitos na forma de aglicona. (Pereira; Das Graças Cardoso, 2012).

Existem vários métodos de extração de metabólitos secundários, a frio ou a quente, como prensagem e decocção. Alguns fatores vão influenciar na extração: parte da planta utilizada, o método e, principalmente, qual tipo de solvente é usado. A escolha do solvente a ser utilizado na extração de metabólitos secundários depende das características físico-químicas dos constituintes da planta e da finalidade do extrato (tabela 1) (Oliveira; Maior; Dresch, 2018).

Tabela 1 - Indicações dos solventes para extração de metabólitos secundários.

Solvente	Indicação
Água	Antocianinas, Taninos, Saponinas, Terpenóides, Polipeptídeos e Lectinas.
Metanol	Polifenóis, Antocianinas, Taninos, Terpenóides, Lactonas e Flavonas.
Etanol	Polifenóis, Alcalóides, Taninos, Terpenóides e Esteróides.
Hexano	Terpenos, Esteróides e Acetofenonas.
Acetona	Fenóis e Flavonoides.
Clorofórmio	Terpenoides e Flavonoides.
Acetato de Etila	Flavonóides, Xantonas, Taninos, Saponinas e Triterpenos.

Fonte: Adaptado de Oliveira; Maior; Dresch (2018)

A obtenção de extratos vegetais não só desempenha um papel crucial na medicina, mas também se revela fundamental no contexto do agronegócio. Muitos fármacos têm suas origens em plantas, como a varfarina e o dicumarol, derivados de cumarina, que tem atividades anticoagulantes. Os extratos vegetais emergem como uma alternativa promissora aos antimicrobianos, visto que apresentam múltiplas substâncias com propriedades antimicrobianas (Belém et al., 2021). No setor agrícola, esses extratos representam uma opção sustentável em substituição aos agrotóxicos. Um exemplo prático é o uso do extrato etanólico de *Curcuma longa* L. no controle de fungos em culturas de milho (Loss; Sordi; Cericato, 2022).

3.2 Família Fabaceae

O Brasil destaca-se como um país reconhecido pela sua vasta biodiversidade, abrigando aproximadamente 19% de toda a flora global. O Filo Magnoliophyta, constituído por plantas vasculares, cujos órgãos reprodutivos são flores e frutos, representa a maioria das espécies vegetais encontradas no território. As três maiores famílias desse Filo são: *Orchidaceae*, *Asteraceae* e *Fabaceae*. (Forzza, et al. 2005).

A família Fabaceae possui grande relevância econômica que podem ser encontradas em todos os ecossistemas brasileiros, de grandes florestas tropicais

até em litoral arenoso, e em todas as formas, arbustos, trepadeiras, árvores de pequeno e grande porte (Fernandes; Garcia, 2008).

A família Fabaceae é dividida em três subfamílias: *Caesalpinioideae*, *Faboideae* e *Mimosoideae*. A subfamília *Caesalpinioideae* possui como características principais: folhas pinadas ou bipinadas, cálice na maioria das vezes dialissépalo, corola actinomorfa, zigomorfa ou assimétrica, dialipétala e com prefloração imbricada carenal (Filardi; Garcia; Okano, 2009). Já as espécies da subfamília *Mimosoideae* apresentam folhas alternas, compostas, bipinadas e raramente pinadas, flores monocíclicas e diclinas, actinomorfas, sésseis ou pediceladas, cálice pode ser gamossépalo, campanulado ou tubuloso (Tamashiro; Escobar, 2016). Por fim, a *Faboideae*, também conhecida como *Papilionoideae*, representa a maior subfamília, apresentando características distintas, tais como folhas imparipinadas, trifoliadas ou unifolioladas, e flores diclamídeas com corola exibindo prefloração imbricada descendente ou vexilar (Santos, 2019).

Dentre as três subfamílias da *Fabaceae*, a *Faboideae* destaca-se pela sua significativa relevância econômica. Na esfera do agronegócio, a subfamília *Faboideae* apresenta espécies de grande relevância, a exemplo da soja (*Glycine max*), que se destaca como a principal oleaginosa mundial, sendo amplamente cultivada e consumida tanto para fins humanos quanto para alimentação animal (Silva; Lima; Batista, 2011). Outra espécie que se destaca nessa subfamília é o feijão (*Phaseolus vulgaris*), presente no almoço de muitos brasileiros, junto com arroz e alguma proteína (Barbosa, 2007). Já na construção civil e naval, as madeiras do gênero *Hymenolobium* tem grande importância, devido a sua resistência, durabilidade e versatilidade, sendo amplamente utilizadas para diversas aplicações, desde estruturas até acabamentos (IPT, 2024).

3.3 Gênero *Hymenolobium*

As espécies pertencentes ao gênero *Hymenolobium* desempenham um papel significativo na indústria devido ao fato de suas madeiras serem classificadas como “madeira de lei”. Essa designação é uma expressão popular que denota não apenas a resistência dessas madeiras a fenômenos físicos, mas também sua capacidade de resistir ao desgaste causado por agentes naturais, incluindo organismos xilófagos, conferindo-lhes um valor particularmente destacado na utilização industrial (Martins, 2018).

Existem cerca de 17 espécies desse gênero que são comercializadas com o nome popular de “angelim”, *H. heterocarpum*, *H. nitidum*, *H. excelsum*, *H. petraeum*, entre outras. Além disso, essas árvores são empregadas como espécies ornamentais, não apenas devido ao seu porte imponente, mas também pelos seus atrativos aspectos durante a floração, quando se adornam com flores que variam desde tonalidades de lilás até um delicado rosa claro (Gilberto; Ferreira; Hopkins, 2004).

3.4 *Hymenolobium petraeum* Ducke

Dentro do gênero *Hymenolobium*, destaca-se a *Hymenolobium petraeum* Ducke, popularmente conhecida como angelim pedra, uma espécie amplamente utilizada na alvenaria, indústria moveleira e construção civil. Esta árvore arbórea pode atingir impressionantes 55 metros de altura e 2 metros de diâmetro (Figura 1), sendo nativa da região da Floresta Amazônica. Suas folhas apresentam uma textura pubescente a serícea, as inflorescências formam panículas globosas, e suas flores possuem ovários pubescentes nas margens, enquanto as sementes são encapsuladas em um legume samaróide. (Oliveira et al., 2010).

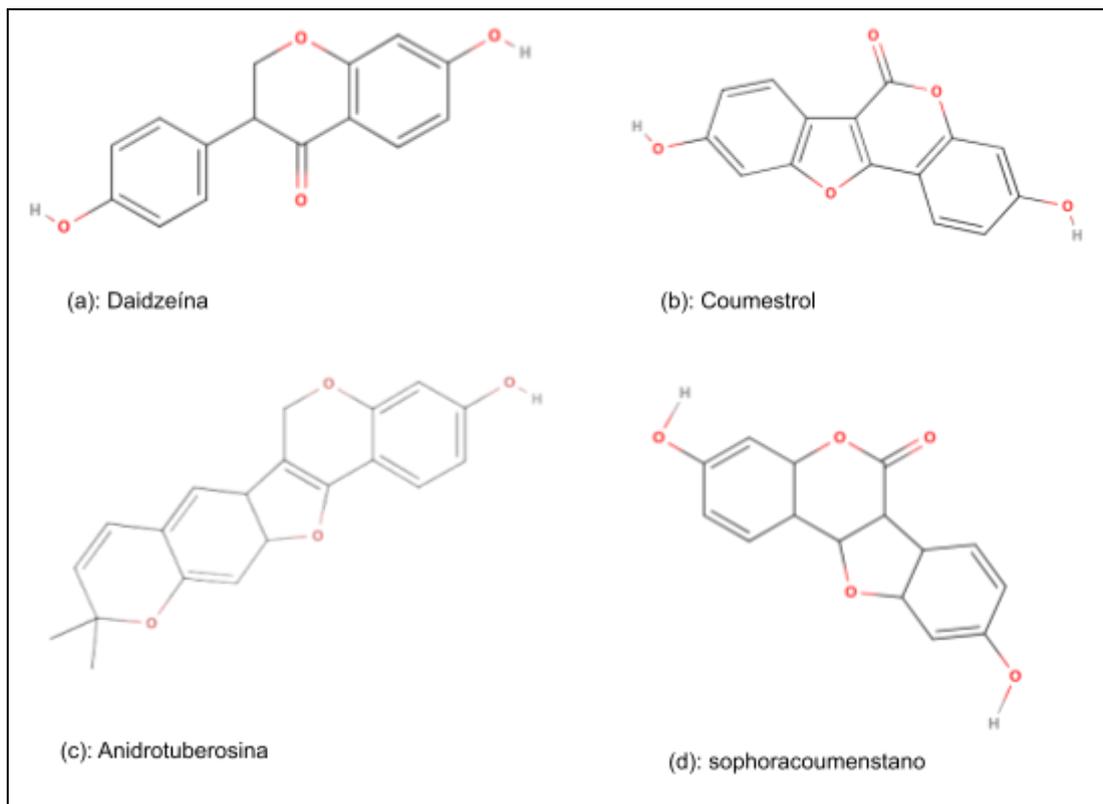
Figura 1 - *Hymenolobium petraeum* Ducke (angelim pedra).



Fonte: LPF - Laboratório de Produtos Florestais, 2024.

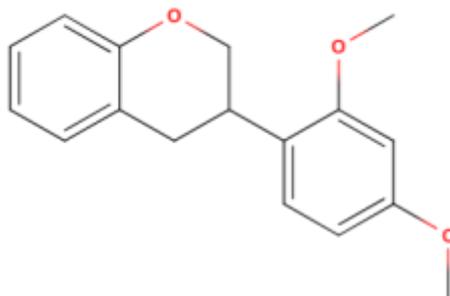
Estudos evidenciam que a madeira dessa espécie exibe não apenas uma notável resistência mecânica, mas também uma capacidade de defesa contra organismos xilófagos, como fungos e cupins. Em um ensaio de alimentação sem escolha com o cupim *Nasutitermes octopilis*, observou-se uma resistência significativa da madeira a esse organismo, possivelmente devido aos seus constituintes químicos. A família Fabaceae, à qual essa espécie pertence, é caracterizada pela presença de isoflavonoides, os quais podem atuar como fitoalexinas, compostos moleculares produzidos e acumulados nas plantas em resposta à atividade antimicrobiana (Stangarlin et al., 2020). Oliveira (2011) identificou no extrato da madeira de *H. petraeum* um isoflavonoide (daidzeína), um pterocarpano (anidrotuberosina) e dois coumenstanos (coumestrol e sophoracoumenstano)(Figura 2). Adicionalmente, Lima et al. (2022) encontraram no extrato metanólico uma isoflavona reconhecida como sativan (Figura 3).

Figura 2 - Estruturas químicas de metabólitos isolados do extrato da madeira de *H. petraeum*. (a) daidzeína, (b) coumestrol, (c) anidrotuberosina e (d) sophoracoumenstano.



Fonte: Adaptado de Oliveira (2011).

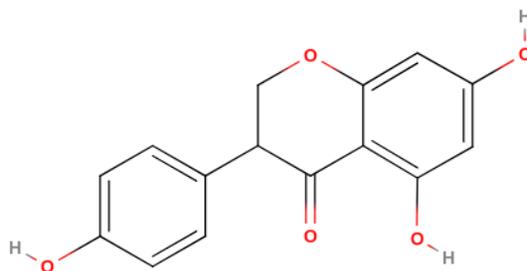
Figura 3- Estrutura química isolada da madeira de *H. petraeum*, sativan.



Fonte: Adaptado de Lima et al., 2022.

Foram identificados taninos na madeira de *H. petraeum*, metabólitos secundários que possuem a capacidade de precipitar proteínas, desempenhando um papel crucial no mecanismo de defesa das plantas. Além disso, Da Silva (2013) detectou a presença do isoflavonoide genisteína (figura 4) em *H. sericeum*, o qual também pode estar presente em *H. petraeum*, uma vez que é considerado um marcador químico característico da subfamília Faboideae (Castro et al., 2013).

Figura 4 - Estrutura química isolada da madeira de *H. sericeum*, genisteína.



Fonte: Adaptado de Da Silva, 2013.

Os extratos provenientes de plantas resistentes a organismos xilófagos, como *H. petraeum*, apresentam-se como uma alternativa viável no controle de pragas, considerando que o uso de inseticidas não apenas acarreta diversos problemas ecológicos, mas também implica em riscos para a saúde humana. Nos estudos conduzidos por Oliveira (2011), a madeira de angelim pedra demonstrou resistência a diversos fungos causadores de podridão branca, tais como *Phanerochaete chrysosporium*, *Pycnoporus sanguineus*, *Schizophyllum commune*, *Lentinula edodes* e *Trametes villosa*. Adicionalmente, Sousa (2012), por meio do teste de discos de difusão em ágar, observou que o extrato de *H. petraeum* inibiu o crescimento de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (Kobayashi; Amaral, 2018).

Outro aspecto importante para a resistência de uma madeira contra organismos xilófagos é a quantidade de lignina presente. Estudos conduzidos por Castro et al. (2015) e Oliveira (2013) revelaram uma concentração de lignina entre 30% e 35%, sugerindo que esse teor pode ser um dos fatores determinantes para a resistência natural da madeira em questão (Castro et al., 2015; Oliveira, 2022).

3.5 Bactérias

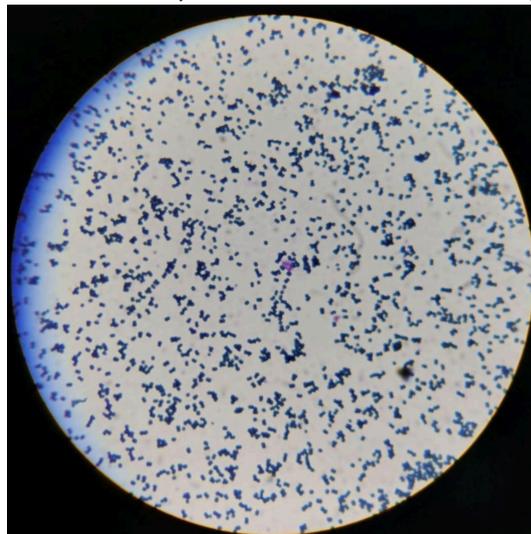
As bactérias são seres procariontes pertencentes ao domínio Bacteria, que tem como características principais, a falta de núcleo definido e são unicelulares. Elas possuem várias formas, cocos, bastões e espiral, além disso, podem ter em sua parede celular externa, flagelos, filamentos axiais e fímbrias (Tortora; Funke; Case, 2017).

No ano de 1884 o médico Hans Christian Joachim Gram, desenvolveu a Técnica de Gram a qual diferencia as bactérias em dois grupos, gram positivas e gram negativas. Nessa técnica, utiliza-se o corante primário, cristal de violeta, e o lugol para aumentar a intensidade de coloração. Depois, utiliza-se álcool etílico como descolorante e ,por fim, utiliza-se fucsina como corante secundário. (Treno, 2018).

Enquanto as bactérias Gram positivas possuem uma parede celular mais espessa, formada por peptidoglicanos junto com ácidos teóicos e proteínas. Dessa forma, elas retêm o corante cristal violeta depois da descoloração com o álcool. Já as Gram negativas, possuem uma parede celular mais complexa constituída por uma porção de lipossacarídeo(LPS) mais externa e uma fina camada de peptidoglicano. Assim, quando entram em contato com o álcool perdem a coloração do corante primário, depois adquirem a coloração secundária (Molinario et al., 2009).

Dentro das bactérias Gram positivas, o gênero *Staphylococcus* é um dos principais, no qual representa metade das espécies isoladas de amostras biológicas humanas. Outros gêneros de importância médica e econômica, são: *Streptococcus*, *Enterococcus* e *Bacillus* (Monnerat et al., 2021).

Figura 5 - Cocos Gram-positivos através do microscópio óptico.



Fonte: Do autor, 2024.

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria gram positiva em formato de coco, que pode estar presente na pele ou em mucosas, onde pode agir como ser

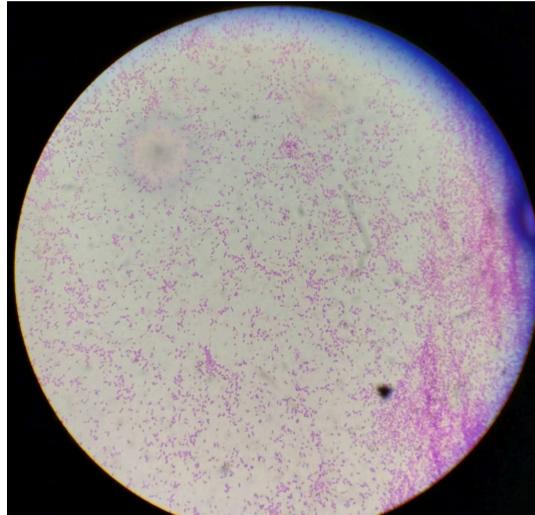
comensal ou patógeno oportunista. Essa espécie é considerada uma das bactérias patogênicas mais importantes, devido a capacidade de causar infecções de baixa a alta gravidade. Ela está geralmente associada a Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), pois produz uma toxina termo resistente que causa problemas gastrointestinais, principalmente, vômito e o fato de fazer parte da microbiota humana, facilita a disseminação em casos de manipulação inadequada de alimentos (Soragni; Barnabe; De Campos Mello, 2019).

Apesar do *S. aureus* ser suscetível a várias classes de antibióticos, também consegue desenvolver resistência à maioria delas, devido a mutações gênicas ou transferência por plasmídios. Por conta disso, conseguiu adaptar-se a uma grande variedade de fármacos, como penicilinas, aminoglicosídeos, quinolonas, macrolídeos e cloranfenicol. Atualmente, a cepa MRSA (*S. aureus* resistente à meticilina) é de grande importância nos ambientes hospitalares, devido a sua taxa de disseminação (Cussolim et al., 2021).

A bactéria gram positiva *Bacillus subtilis*, que não é patogênica, tem forma de bastonete e é encontrada em ambientes aquáticos, solos e no intestino de seres vivos, devido à sua capacidade de formar endósporos. Sua membrana facilita a secreção de proteínas, isso a torna uma bactéria boa para produção de substâncias medicinais e industriais (Su et al., 2020).

Já as bactérias gram negativas são divididas em dois grupos, enterobactérias e não-fermentadoras da glicose. As enterobactérias são principais bactérias gram negativas isoladas de amostras biológicas e alguns gêneros que pertencem a esse grupo, são: *Escherichia spp*, *Shigella spp* e *Salmonella spp*. Já as não fermentadoras apesar de não serem frequentemente isoladas, também têm grande importância clínica. Algumas espécies *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* e *Acinetobacter baumannii* fazem parte das não fermentadoras de glicose (De Oliveira, 2021).

Figura 6 - Bactéria Gram negativa baciliforme, *Pseudomonas aeruginosa*, através do microscópio óptico.



Fonte: Do autor, 2024.

Entre as principais bactérias Gram-negativas, destaca-se a *Escherichia coli*, um bacilo que integra a microbiota intestinal de humanos e animais. Além de desempenhar um papel benéfico nesse ambiente, a *E. coli* também pode agir como um patógeno oportunista, causando infecções no trato urinário, tecidos moles, meningites e até mesmo no sistema gastrointestinal. Importante notar que essa bactéria ocupa o terceiro lugar na lista da OMS de organismos prioritários com resistência a antibióticos (Denamur et al, 2021).

As formas patogênicas dessa bactéria são classificadas em patótipos: *E.coli* toxina de Shiga (STEC), *E.coli* uropatogênica (UPEC), *E.coli* enteropatogênica (EPEC), *E.coli* enterotoxigênica (ETEC) e entre outras. Isso ocorre por causa das grande variedades de fatores de virulência que esse microrganismo possui, fatores de adesão e toxinas. Além disso, a *E. coli* apresenta resistência a muitos antimicrobianos, devido não só ao uso irracional desses medicamentos, mas também a sua boa capacidade de adaptação (Foster-Nyarko; Pallen, 2022).

4.8 Fungos

Diferentemente das bactérias, o reino Fungi é composto por organismos eucariontes, podendo manifestar-se como unicelulares ou multicelulares e quimio-heterotróficos. Esses organismos exibem a capacidade de agir como parasitas ou predadores, reproduzindo-se tanto de maneira sexuada quanto

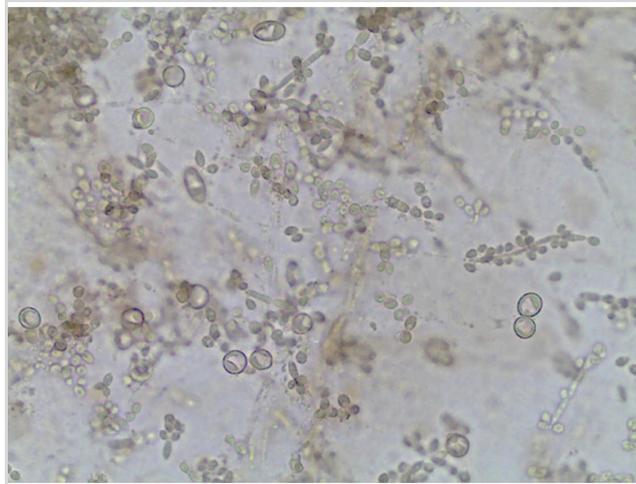
assexuada. As paredes celulares dos fungos são constituídas por polissacarídeos, com o ergosterol destacando-se como o principal esteroide presente em suas membranas (Azevedo e Barato, 2018). Os fungos desempenham um papel crucial na produção de alimentos e medicamentos, contribuindo, por exemplo, para a fabricação de pães e a síntese de antibióticos. No entanto, é importante salientar que também estão associados a infecções em humanos, animais e plantas (Tortora; Funke; Case, 2011). Eles podem ser categorizados em leveduriformes e filamentosos.

Os fungos leveduriformes são unicelulares e não possuem diferença morfológica entre sua parte reprodutiva e vegetativa. Eles se reproduzem por brotamento, às vezes, podem formar pseudo hifas, devido ao brotamento sucessivo. Além disso, os fungos leveduriformes tem uma boa capacidade de deterioração, pois conseguem desenvolver-se em ambientes com uma certa quantidade de sal e sobrevivem a estresse físico-químicos (Santos, 2021; Trabulsi; Altherthum, 2008).

Dentro dos fungos leveduriformes, *Candida albicans* destaca-se como uma das principais espécies. Ela normalmente faz parte da microbiota do ser humano, atuando como comensal. Entretanto, em casos de desequilíbrio no organismo esse fungo pode se tornar oportunista. Essas infecções podem manifestar-se em diversas mucosas e, em situações mais severas, tornar-se sistêmicas, dependendo da localização e condição do hospedeiro (Lopes, 2022).

Além disso, a *C. albicans* tem como mecanismo de virulência secreção de enzimas hidrolíticas, fosfolipases e protease aspártica, que causam a destruição da membrana. Outro problema comum é a resistência aos antifúngicos azólicos, miconazol e cetoconazol, equinocandinas, micafungina e caspofungina, e aos poliênicos, nistatina e anfotericina B. Isso deve-se às bombas de efluxo, mudanças de sítios ativos e formação de biofilme (Da Rocha, 2021).

Figura 7 - *Candida albicans*. Pseudo-hifas, blastoconídios e clamidoconídios



Fonte: Oliveira, 2013.

Quanto aos fungos filamentosos, caracterizam-se por serem multicelulares, apresentando unidades funcionais denominadas hifas, que podem ser septadas ou contínuas. O micélio, formado por um conjunto dessas hifas, desempenha um papel fundamental na sustentação do fungo, enquanto a parte reprodutiva é chamada de micélio reprodutivo, responsável pela formação dos esporos. Os fungos filamentosos possuem uma relevância significativa no âmbito farmacêutico e médico devido à produção de medicamentos; no entanto, também estão associados a infecções superficiais e sistêmicas. Além disso, esses fungos desempenham um papel crucial como fitopatógenos, contribuindo para a redução da produção de alimentos destinados ao consumo (Trabulsi; Altherthum, 2008; Agapto, 2021).

Phanerochaete chrysosporium, um fungo filamentoso do filo Basidiomycota, é reconhecido como causador da podridão branca (Figura 9), uma questão que impõe consideráveis prejuízos à indústria madeireira ao impactar a resistência mecânica e as propriedades físicas da madeira. Este fungo tem a notável capacidade de secretar enzimas lignolíticas, incluindo lignina peroxidase e manganês peroxidase, que desencadeiam a degradação da lignina, uma das substâncias fundamentais da madeira. Como resultado, o *P. chrysosporium* é capaz de provocar um descoloramento significativo no material (Singh; Chen, 2008).

Figura 8 - Fungo da podridão branca *Phanerochaete chrysosporium* em seu ambiente natural, a madeira.



Fonte: Tripathi; Srivastava, 2011.

Já que a fonte de carbono dos fungos da podridão branca é a lignina, esses organismos são adaptados para degradar madeira. Devido a isso, algumas espécies vegetais desenvolveram mecanismo de combate a esses fungos, ligação às enzimas e eliminação não apenas de radicais livres, mas também de metais (Broda et al., 2020).

Como as enzimas do *P. chrysosporium* possuem uma baixa especificidade ao substrato, elas também podem ser usadas para tratar efluentes e clareamento químico de polpa. Por fim, uma característica importante desse fungo é sua capacidade de competição com outros organismos e a temperatura ideal de crescimento é entre 37° a 39° C (Ricaczski, 2020).

4.9 Antibiograma

Para o tratamento de problemas com os microorganismos é importante saber a sensibilidade, não só para aperfeiçoar a terapia, mas também com a finalidade de evitar o desenvolvimento de cepas resistentes e diminuir a toxicidade (Donizete et al., 2020). A forma de obter essa informação é por meio de testes de sensibilidade in vitro que dará um antibiograma, que classifica os organismos em resistentes, intermediários e sensíveis, segundo o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Existem diversos métodos para realizar um antibiograma, como a difusão em disco, a microdiluição em caldo e a automação. Cada um desses métodos possui

suas vantagens e limitações, sendo a escolha entre eles dependente do tipo de amostra e do microorganismo em questão. Ademais, a interpretação de um antibiograma requer familiaridade com alguns conceitos essenciais, tais como a Concentração Inibitória Mínima (CIM), que representa a concentração mais baixa de um antimicrobiano capaz de inibir o crescimento bacteriano inicial; a Concentração Mínima Bactericida (CMB), que é a menor concentração necessária para erradicar a cepa bacteriana; o Efeito Bacteriostático, que denota a capacidade de inibir o crescimento bacteriano; e o Efeito Bactericida, caracterizado pela propriedade de matar as bactérias (Drummond-Suinaga et al., 2023).

Dentre os testes de sensibilidade *in vitro*, o teste de difusão em disco, de acordo com o BrCast, destaca-se como um dos métodos mais antigos e versáteis para determinar um antibiograma. Nesse procedimento, suspensões de colônias, preparadas em solução salina com turbidez 0,5 na Escala McFarland, são uniformemente inoculadas em placas de Petri através de swabs. Posteriormente, um disco de papel impregnado com a concentração específica do antibiótico, conforme indicado pelo comitê, é adicionado. A interpretação do resultado é realizada através da observação do halo de inibição formado ao redor do disco (BrCast, 2023).

Um método adicional para a determinação do antibiograma é a microdiluição em caldo, envolvendo o uso de uma placa de 96 poços de fundo chato. O inóculo utilizado deve apresentar turbidez 0,5 na Escala McFarland. Nesse processo, realiza-se uma diluição seriada do antibiótico, visando obter a Concentração Inibitória Mínima (CIM), uma informação crucial para otimizar a terapia. Além disso, os métodos automatizados também se destacam como alternativas práticas e rápidas (BrCast, 2023).

4. METODOLOGIA

4.1 Preparo de Materiais

4.1.1. Preparação do Extrato

A madeira de *H. petraum* foi obtida no comércio no estado do Pará. Em seguida, foi moída em um moinho de facas e obteve-se um tamanho de 20 mesh. Já para preparação do extrato etanólico, seguiu a metodologia de Silverio et al (2006) com algumas modificações.

Foram pesados 90g da serragem e colocado no aparelho de soxhlet. Primeiro foi feita uma extração com ciclohexano e depois com etanol. Por último com acetona/ água na proporção 7:3, a fim de remover todos os extrativos da madeira e obter uma serragem livre desses constituintes. Os extratos ciclohexano e etanólico foram colocados no rota-evaporador para remover o solvente, em seguida, os solventes foram recuperados. Já os extratos foram secos em temperatura ambiente por um período de 15 dias no abrigo da luz. Apenas foi utilizado o extrato etanólico, enquanto o de ciclohexano foi guardado.

4.1.2. Preparação da Emulsão

O preparo da emulsão foi de acordo com Guarda et al (2003) com algumas adaptações. Foram pesados 112 mg de extrato etanólico seco, depois, em um cadinho e com auxílio de um pistilo, foi dissolvido em 0,5mLde DMSO. Em seguida, foi adicionado 0,5mLde Tween 80 e por fim, 9mLde água destilada fervente. Obteve-se uma emulsão com a concentração de 11,2mg/mLde extrato etanólico.

4.1.3. Obtenção das Cepas

As cepas *Staphylococcus aureus* 01, *Escherichia coli* UFPEDA 244, *Bacillus subtilis* UFPEDA 16, *Candida albicans* UFPEDA 146 e *Phanerochaete chrysosporium* URN 6181 foram obtidas no Laboratório de Microbiologia Ambiental e Industrial (LAMAI) do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Vinte e quatro horas antes dos testes testes de Microdiluição em Caldo e Checkerboard, as cepas foram semeadas por espalhamento em placas

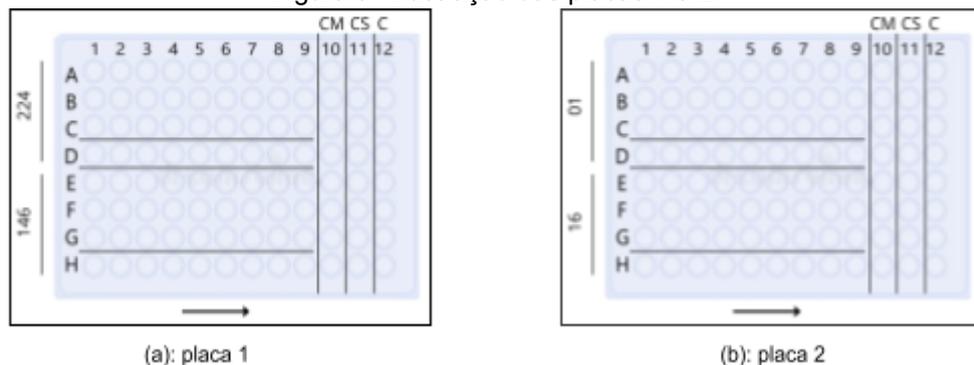
de petri, as bactérias em ágar Mueller Hinton (MH) e fungos em ágar Sabouraud. No momento da realização dos experimentos, foram preparadas suspensões microbianas em água estéril com densidade 0,5 na Escala McFarland.

4.2. Atividade Microbiológica

4.2.1. Teste de Microdiluição em Caldo

Para determinação da CIM foi utilizado o Teste de Microdiluição em Caldo baseado em Gama et al (2020) com algumas adaptações. Foi utilizada uma placa de 96 poços e colocado 100µL do caldo MH em todos os poços, menos para a *C. albicans* que foi o caldo Sabouraud. Em seguida foi adicionado 100µL da emulsão do extrato etanólico nos poços A1 a C1 e E1 a G1 feita uma diluição seriada (1:2). Que obteve o extrato nas concentrações: 560µg/mL; 280µg/mL; 140µg/mL; 70µg/mL; 35µg/mL; 17,5µg/mL; 8,75µg/mL; 4,375µg/mL; 2,1875µg/mL. Na Placa 1, para a cepa *E. coli* 224 utilizou o antibiótico Gentamicina na concentração inicial de 10µg/mL no primeiro poço (D1) e para a cepa de *C. albicans*, usou o antifúngico Nistatina na concentração inicial 36 µg/mL no primeiro poço (H1). Também foi feita uma diluição seriada com os antimicrobianos. Em seguida, foi adicionado 10µL da suspensão microbiana, primeiramente, no controle (C) e no Controle do Solvente (CS), depois adicionados em todos os poços da coluna 1 a 9 no sentido inverso da concentração dos antimicrobianos e extrato. Já na placa 2, foi feito o mesmo procedimento, mas para as Cepas *S. aureus* 01 e *B. subtilis* 16, Oxacilina na concentração inicial de 10µg/mL e a Vancomicina na concentração inicial de 10µg/mL, respectivamente. Após um período de 24 horas de incubação a 37°C, foi colocado 10µL de solução aquosa de resazurina (7-hydroxy-10-oxidophenoxazin-10-ium-3-one) a 0,01% em todos os poços, em seguida, foi colocado mais duas horas de incubação. Por fim, devido a coloração do extrato, alguns poços foram semeados para verificar o crescimento dos microrganismos.

Figura 9 - Ilustração das placas 1 e 2.



Fonte: Do autor, 2024.

4.2.2. Teste de Checkerboard

Para analisar o sinergismo do extrato etanólico com o antimicrobiano, foi feito o Teste de Checkerboard, conforme Taysser et al (2020) com algumas adaptações. Em uma placa de 96 poços, foram adicionados 100µL de caldo MH em todos os poços, salvo na coluna 11 na qual foram 180µL. Na linha A até 10, foram adicionados 100µL da emulsão e feita uma diluição seriada de 560µg/mL a 87,5µg/mL no sentido A →H. Já na coluna 11, foram adicionados 20µL de Oxacilina a 40µg/mL em todos os poços, menos o A11. Posteriormente, foi realizada uma diluição seriado do antibiótico de 400µg/mL até 0,078125µg/mL. Por fim, 10µL da suspensão bacteriana com a cepa *S.aureus* 01 foram adicionadas em todos poços, menos o A11.

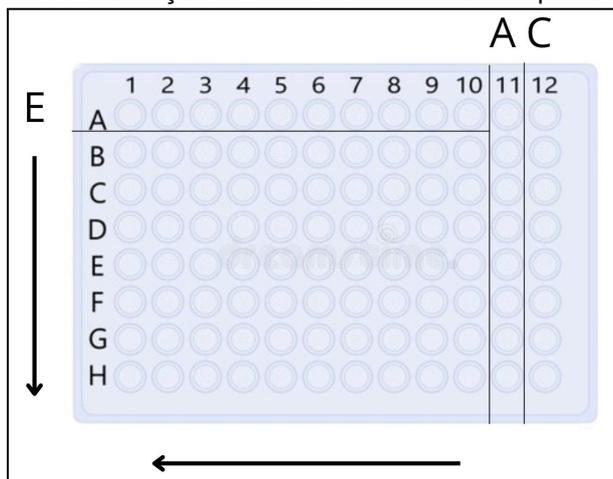
Após 24 horas de incubação, foram adicionados 10µL de solução aquosa de resazurina (7-hydroxy-10- oxidophenoxazin-10-ium-3-one) a 0,01% para verificar o crescimento microbiano após 2 horas depois de incubação. Depois, alguns poços foram semeados em placas de petri com ágar MH para confirmar o crescimento da bactéria. Além disso, foi utilizado os cálculos 1,2 e 3 para determinar a Concentração inibitória Fracionada (CIF) e índice de concentração inibitória fracionada (ICIF).

$$CIF (A) = CIM \text{ da Substância A combinada} / CIM \text{ da Substância A isolada} \quad (1)$$

$$CIM (B) = CIM \text{ da Substância B combinada} / CIM \text{ da Substância B isolada} \quad (2)$$

$$ICIF = CIF (A) + CIF (B) \quad (3)$$

Figura 10- Ilustração do teste de checkboard na placa de 96 poços.

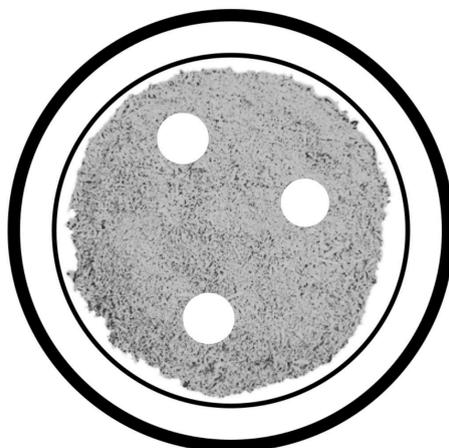


Fonte: Do autor, 2024.

4.2.3 Teste de atividade Fungicida

O teste de atividade fungicida seguiu a metodologia de Oliveira (2011) com algumas modificações. Foram separadas 12 placas Petri esterilizadas, a serragem de *H. petraeum* com e sem extrativos e o fungo *Phanerochaete chrysosporium*. Em 6 placas, foram adicionados 3,5g da serragem com extrativos e nas outras 3,5 da serragem sem extrativos. Em seguida, foi adicionado 4 mL de água esterilizada em todas as placas. Depois, em apenas 3 das 6 placas com extrativos foram colocados 3 blocos de ágar de ± 6 mm de diâmetro com o fungo semeado em cada. O mesmo foi feito com as placas sem extrativo e por fim, todas as placas foram incubadas em estufa a 30° C e observado o crescimento durante 18 dias.

Figura 11 - Ilustração da placa placa de petri com a serragem e os blocos de ágar.



Fonte: Do autor, 2024.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Teste de Microdiluição em Caldo

Os flavonoides são reconhecidos como antioxidantes significativos devido à sua habilidade em doar elétrons, contribuindo para a eliminação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e intensificando a ação de enzimas antioxidantes biológicas. Além disso, na literatura, também são mencionadas suas propriedades anti-inflamatórias e antimicrobianas (Pacheco; Peraza; Pinto, 2021).

Dado que as espécies da subfamília Faboideae são conhecidas por conter isoflavonoides, era esperado que o extrato etanólico da madeira de *Hymenolobium petraeum* apresentasse resultados positivos no teste de microdiluição em caldo. Isto se deve à capacidade dos flavonoides, conforme discutido por Shamsudin et al. (2022), de reduzir a síntese de ácidos nucleicos e afetar a função da membrana plasmática. Isso é atribuído à crença de que esse efeito pode surgir devido à inibição da topoisomerase procariótica tipo II. A estabilização do complexo de clivagem dessa enzima resulta na geração de defeitos no DNA, acarretando, conseqüentemente, disfunções na célula bacteriana (Verdrengh et al., 2004).

Além dos flavonoides, os taninos também possuem atividade antimicrobiana. Atuam por diferentes mecanismos, como a quelação de ferro, impedindo assim o crescimento de bactérias. Também podem inibir enzimas importantes para a virulência dos microrganismos, a exemplo a inibição de urease e neuraminidase. (Farha et al., 2020).

No entanto, neste estudo específico, observou-se crescimento dos microrganismos em todas as concentrações do extrato. Como resultado, não foi viável determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM), ao contrário do que foi possível para os antimicrobianos, conforme evidenciado na tabela 2. Além disso, como esperado a emulsão desprovida do extrato não apresentou capacidade de inibir o crescimento microbiano.

Inicialmente, a suposição era de que a falta de atividade antimicrobiana no teste de microdiluição em caldo se devia à baixa concentração utilizada, pois os constituintes poderiam estar presentes em quantidades insuficientes. No entanto, Belém et al. (2021), ao revisar plantas do cerrado com atividade antimicrobiana, encontrou estudos que apresentaram eficácia a concentrações inferiores a 50

$\mu\text{g/mL}$ do extrato. Por exemplo, o extrato hexânico do fruto de *Mauritia flexuosa* demonstrou atividade contra *E. coli* na concentração de 32 $\mu\text{g/mL}$ (Belém et al. 2021).

Outra hipótese é que a parte da planta utilizada pode conter quantidades limitadas de metabólitos secundários. Isso se deve ao fato de que a maioria das partes vegetais utilizadas são as folhas, embora também sejam empregadas as flores, frutos e cascas. Essa explicação ganha respaldo na composição química da madeira, onde a maior proporção é constituída por lignina e celulose, enquanto apenas 0,2 a 20% corresponde aos extrativos (De Araujo, 2020; Gonçalves; Alves; Menezes, 2022).

Tabela 2 - Concentração inibitória mínima dos Antimicrobianos.

Antimicrobiano	Cepa	CIM
Gentamicina	<i>Escherichia coli</i> UFPEDA 244	0,625 $\mu\text{g/mL}$
Vancomicina	<i>Staphylococcus aureus</i> UFPEDA 01	1,25 $\mu\text{g/mL}$
Oxacilina	<i>Bacillus subtilis</i> UFPEDA 16	0,3125 $\mu\text{g/mL}$
Nistatina	<i>Candida albicans</i> UFPEDA 146	4,5 $\mu\text{g/mL}$

6.2. Teste de Checkerboard

Quanto à combinação do extrato vegetal com o antibiótico, a intenção era promover um sinergismo, visando potencializar a efetividade do fármaco e, conseqüentemente, reduzir a Concentração Inibitória Mínima (CIM) do antibiótico. Isso ocorre, pois certos compostos químicos naturais possuem a capacidade de bloquear mecanismos de resistência dos microrganismos, como o alcalóide Conessine, que atua inibindo a bomba de efluxo (Ayaz et al., 2019).

No entanto, não foi observado um efeito sinérgico com o extrato etanólico da madeira de *Hymenolobium petraeum*, uma vez que a CIM do antibiótico permaneceu constante, independentemente da concentração do extrato. Além disso, devido à impossibilidade de determinar a CIM do extrato, não foi possível calcular a Concentração Inibitória Fracionária (CIF) e o Índice de Concentração Inibitória Fracionária (ICIF). Essa falta de interação entre os componentes químicos

do extrato e o antibiótico beta-lactâmico, a oxacilina, pode explicar essa ausência de efeito sinérgico. No entanto, é plausível que os extrativos possam apresentar sinergismo com outras classes de antibióticos, como demonstrado nos estudos de Saquib et al. (2019), nos quais o extrato etanólico dos galhos de *Salvadora persica* exibiu um efeito sinérgico mais pronunciado com a tetraciclina (Saquib et al., 2019).

Adicionalmente, os extrativos presentes na madeira em questão podem não apresentar atividade sinérgica com antibióticos. Isso se deve ao fato de que a maioria dos compostos com atividade antimicrobiana pertence à classe dos terpenoides, seguidos pelos compostos fenólicos, como a luteolina, isoramnetina-3-O- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glicopiranosídeo, epigalocatequina-galato e crisoeriol-7-O- β -D-xilosídeo (Álvarez-Martínez et al., 2021). Além disso, é relevante considerar que o efeito sinérgico pode se manifestar em concentrações mais elevadas, dado que o extrato pode exibir uma atividade antibacteriana relativamente fraca, caracterizada quando a CIM ultrapassa 1600 $\mu\text{g/mL}$ (Silva et al., 2019).

Tabela 3 - CIM da combinação do extrato com o antibiótico.

Concentração do Extrato	Concentração de Oxacilina	Interpretação
280 $\mu\text{g/mL}$	1,25 $\mu\text{g/mL}$	Inibição
280 $\mu\text{g/mL}$	0,625 $\mu\text{g/mL}$	Crescimento
280 $\mu\text{g/mL}$	0,3125 $\mu\text{g/mL}$	Crescimento
140 $\mu\text{g/mL}$	1,25 $\mu\text{g/mL}$	Inibição
140 $\mu\text{g/mL}$	0,625 $\mu\text{g/mL}$	Crescimento
140 $\mu\text{g/mL}$	0,3125 $\mu\text{g/mL}$	Crescimento
70 $\mu\text{g/mL}$	1,25 $\mu\text{g/mL}$	Inibição
70 $\mu\text{g/mL}$	0,625 $\mu\text{g/mL}$	Crescimento
70 $\mu\text{g/mL}$	0,3125 $\mu\text{g/mL}$	Crescimento

6.3 Atividade Fungicida

Quanto à resistência ao fungo *Phanerochaete chrysosporium*, os resultados indicam que a espécie apresenta adaptações notáveis. Nas placas de controle e nas placas com extrativos (Figura 16), não foi observado crescimento do fungo após 18 dias na estufa, ao passo que nas placas sem extrativos, ocorreu o crescimento (Figura 15). Essa proteção evidenciada possivelmente se deve à presença dos extrativos, os quais podem exercer efeitos tóxicos, inibir ações de degradação e reduzir a permeabilidade da água (Paulo et al., 2020).

Figura 12 - Placas de Petri da madeira de *H. petraeum* com extrativos



Fonte: Do autor, 2024.

Figura 13 - Placas de petri da madeira de *H. petraeum* sem extrativos.



Fonte: Do autor, 2024.

Dentre os extrativos presentes na madeira de *H. paetream*, os taninos assumem uma importância crucial. Isso se deve ao fato de que animais tendem a evitar plantas com alto teor desses compostos devido ao gosto desagradável e aos problemas digestivos resultantes da interação com enzimas. Esse efeito também se manifesta em fungos degradadores da madeira (Scárdua et al., 2021). Conforme

apontado por Broda (2020), os taninos estabelecem ligações irreversíveis com metais e proteínas, conferindo propriedades antifúngicas, uma vez que algumas enzimas, como a manganês peroxidase de *P. chrysosporium*, dependem desses (Broda et al., 2020).

Os isoflavonoides também desempenham um papel importante na proteção da madeira. Além de atuarem como antioxidantes eficazes, sua função não se limita apenas a esse mecanismo. Na planta, eles agem como fitoalexinas, exercendo atividade antimicrobiana. Em situações de estresse, ocorre a formação de derivados provenientes dos isoflavonoides, especificamente os pterocarpanos, que desempenham um papel essencial no combate aos fungos. (Kim et al., 2021).

6. CONCLUSÃO

O estudo revelou que, nas concentrações utilizadas, o extrato etanólico da madeira de *H. petraeum* não exerce atividade contra as bactérias testadas e o fungo leveduriforme *C. albicans*, tampouco manifesta efeito sinérgico com antibiótico oxacilina que é tido como melhor indicação terapêutica contra *Staphylococcus aureus*. Assim, futuras pesquisas devem explorar não apenas concentrações mais elevadas e outros solventes com diferentes polaridades, mas também outras partes da planta e classes de antibióticos. Os extrativos presentes na madeira de *H. petraeum* inibiram o crescimento do fungo *Phanerochaete chrysosporium* demonstrando uma atividade protetora. Além do considerado efeito protetor dos extrativos presentes na madeira contra o fungo da podridão branca, estes podem ser avaliados em relação a fungos fitopatogênicos de interesse comercial, visando reduzir a dependência de agrotóxicos.

REFERÊNCIAS

- AGÁPTO, João Paulo *et al.* Fungos Fitopatogênicos de Solo em Sistemas Agroflorestais: revisão de literatura. **Diversitas Journal**, v. 6, n. 3, p. 3052-3079, 2021.
- AYAZ, Muhammad *et al.* Synergistic interactions of phytochemicals with antimicrobial agents: Potential strategy to counteract drug resistance. **Chemico-biological interactions**, v. 308, p. 294-303, 2019.
- AZEVEDO, Egídia; BARATO, Margarida. Diversidade no Reino dos Fungos e aplicações na Indústria. **Revista de Ciência Elementar**, v. 6, não. 4, 2018.
- BARBOSA, Livia. Feijão com arroz e arroz com feijão: o Brasil no prato dos brasileiros. **Horizontes antropológicos**. Porto Alegre, v. 13, p. 87-116, 2007.
- BELÉM, Gladysne Mendes *et al.* Plantas do cerrado com atividade antimicrobiana: uma revisão sistemática da literatura. **Research, Society and Development**, 2021
- BESSA, Viviane Costa; LARANJEIRA, Bruno Jaegger. Mecanismos de Resistência Bacteriana em Cocos Gram Positivos. **Revista Científica UNIFAGOC-Saúde**. Ubá, v. 5, n. 1, p. 40-48, 2021.
- Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility - BrCast. Método de Difusão em Disco. Brasil, 2023. Disponível em: <https://brcast.org.br/documentos/documentos-3/>.
- BRODA, Magdalena. Natural compounds for wood protection against fungi—A review. **Molecules**, v. 25, n. 15, p. 3538, 2020.
- CASTRO, Jonnys Paz *et al.* Uso de espécies amazônicas para envelhecimento de bebidas destiladas: análises física e química da madeira. **Cerne**. Lavras, v. 21, p. 319-327, 2015.
- COLELLA, Adriana de Jesus Pita *et al.* Exposição a Fungicidas na Saúde Humana: Uma Revisão Bibliográfica. **Revista Higie-Revista Científica de Saúde**, v. 4, n. 8, 2022.
- CUSSOLIM, Phylipe Adrian *et al.* Mecanismos de resistência do Staphylococcus aureus a antibióticos. **Revista faculdades do saber**. São Paulo, v. 6, n. 12, p. 831-843, 2021.
- DA ROCHA, Wilma Raianny Vieira *et al.* Gênero Candida-Fatores de virulência, epidemiologia, candidíase e mecanismos de resistência. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p. e43910414283-e43910414283, 202
- DA SILVA, Yasmin Cunha. Estudo Fitoquímico e Atividades biológicas de *Hymenolobium sericeum* Ducke. 2013. Orientador: Valdir Florência Veiga Júnior. Relatório de Pesquisa - Química de Produtos Naturais, Universidade Federal do Amazonas, 2013.

DE ARAUJO, Henrique José Borges; FTAL, Eng. Caracterização do material madeira. **Educ. Ambient.-o Desenvol. Sustentável na Econ. Glob**, p. 31-44, 2020.

DE CARVALHO, Juliana Jeanne Vieira *et al.* Bactérias multirresistentes e seus impactos na saúde pública: Uma responsabilidade social. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 6, p. e58810616303-e58810616303, 2021.

DE DEUS, Deise Amaral *et al.* Lignina: uma importante tecnologia química da madeira. **E-Acadêmica** [internet], v. 3, n. 3, p. e7233391-e7233391, 2022.

DE OLIVEIRA SILVA, Tiago; DO NASCIMENTO ORTEGA, Luis. A Resistência Antimicrobiana e Custos de Cuidado de Saúde: Uma Revisão sistemática. **Colloquium Vitae**. Presidente Prudente, v. 13, n. 2, p. 25-39, 20021.

DE OLIVEIRA, Junio Willian Alves; DE PAULA, Cristiane Coimbra. Bactérias gram-negativas multirresistentes: revisão sobre os desafios e demais discussões. **Caderno de Publicações Univag**. Várzea Grande, n. 11, 2021.

DE SOUZA, Mirelly Coêlho *et al.* Óleo Essencial de Canela no Manejo do Bolor Verde e Qualidade Pós-Colheita em Frutos de Citrus sinensis. **Meio Ambiente (Brasil)**, v. 4, n. 4, 2022.

DENAMUR, Erick *et al.* The population genetics of pathogenic Escherichia coli. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 37-54, 2021.

DOMINGOS, Mariana Moreira. Influência de extratos vegetais aquosos em microrganismos de importância agrícola e ambiental. 2020. Dissertação de Mestrado. Universidade do Oeste Paulista.

DONIZETE, Aparecido Luizon *et al.* Importância do uso racional de medicamentos na administração de antibioticoterapia injetável. **CuidArte, Enferm**, p. 226-232, 2020.

DOS ALVES, Pedro Henrique Cordeiro *et al.* Resistência ao Fogo de Duas Espécies Florestais. **Anais Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia da Madeira**. Belém, v. 2, 2017.

DRUMMOND-SUINAGA, Tatiana *et al.* Lectura interpretada del antibiograma. **Gaceta Médica de Caracas**, v. 130, 2022.

FARHA, Arakkaveettil Kabeer *et al.* Tannins as an alternative to antibiotics. **Food Bioscience**, v. 38, p. 100751, 2020.

FERNANDES, José Martins; GARCIA, Flávia Cristina Pinto. Leguminosae em dois fragmentos de floresta estacional semidecidual em Araponga, Minas Gerais, Brasil: arbustos, subarbustos e trepadeiras. **Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Rodriguésia, v. 59, p. 525-546, 2008.

FERNANDES, Leticia Alves; DOS SANTOS, Derik Willian Comodo; DE SOUZA, Aline Francisca. Utilização de extratos vegetais para análise do potencial antibacteriano. **Revista Biociências**, v. 26, n. 2, p. 37-49, 2020.

FERREIRA, Nicolly Soares *et al.* Bacteriologia clínica: antibiograma na medicina veterinária. **TÓPICOS ESPECIAIS EM CIÊNCIA ANIMAL XII**, p. 127, 2023.

FILARDI, Fabiana Luiza Ranzato; GARCIA, Flávia Cristiana Pinto; OKANO, Rita Maria de Carvalho. Caesalpinioideae (leguminosae) lenhosas na estação ambiental de volta grande, Minas Gerais, Brasil. **Revista Árvore**, v. 33, p. 1071-1084, 2009.

FORZZA, R.C., *et al.* As angiospermas do Brasil. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, p. 78-89, 2010.

FOSTER-NYARKO, Ebenezer; PALLEEN, Mark J. The microbial ecology of *Escherichia coli* in the vertebrate gut. **FEMS microbiology reviews**, v. 46, n. 3, 2022.

GAMA, Gil Sander Próspero *et al.* Potencial de *Mauritia flexuosa*. **Engenharia Florestal: Desafios, Limites e Potencialidade**. Belo Horizonte, v. 1, p. 630-638, 2020.

GILBERT, Gracialda Costa; FERREIRA, Michael John; SECCO, HOPKINS; Ricardo de S. Contribuição ao conhecimento morfológico das espécies de leguminosa comercializadas no estado do Pará, como “angelim. **Acta Amazonica**. Belém, v. 34, n. 2, p. 219-232, 2004.

GIULIETTI¹, ANA MARIA *et al.* Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. **Megadiversidade**. Feira de Santana, v. 1, 2005.

GOBBO-NETO, Leonardo; LOPES, Norberto P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova** [online], v. 30, p. 374-381, 2007.

GOMES, Regina Maria *et al.* Avaliação dos constituintes químicos da madeira aplicando diferentes métodos de remoção de extrativos. **Engenharia Florestal: Desafios, Limites e Potencialidade**. Belo Horizonte, v. 1, p. 195-204, 2020.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, p. 353-358, 2022.

GUARDA, Vera L. de M. *et al.* Synthesis of 4-octyl-2H-1, 4-benzo-thiazin-3-ones. **European journal of medicinal chemistry**, v. 38, n. 7-8, p. 769-773, 2003.

Instituto de Pesquisas Tecnológicas. Angelim Pedra, São Paulo. Disponível em: <<https://madeiras.ipt.br/angelim-pedra/>>. Acesso em: 13, Janeiro de 2024.

KIM, Il-Sup. Current perspectives on the beneficial effects of soybean isoflavones and their metabolites for humans. **Antioxidants**, v. 10, n. 7, p. 1064, 2021.

KLOCK, Umberto *et al.* Química da madeira. **Fupec, Curitiba**, 2005.

KOBAYASHI, Bruna Fukumoto; AMARAL, Daniel Rufino. Efeito de extratos vegetais de plantas do Cerrado para controle de pinta-preta em tomateiro. **Summa Phytopathologica**. São Paulo, v. 44, p. 189-192, 2018.

LIMA, Jennifer Araújo de Oliveira *et al.* Chemical investigation and anatomical aspects of wood residues from *Hymenaea courbaril* L, *Platymiscium ulei* Harms, *Hymenolobium petraeum* Ducke. **International Journal for Innovation Education and Research** [internet]. v. 10, n. 1, 2022.

LOPES, José Pedro; LIONAKIS, Michail S. Pathogenesis and virulence of *Candida albicans*. **Virulence**, v. 13, n. 1, p. 89-121, 2022.

LPF-Laboratório de Produtos Florestais. Disponível em: <https://lpf.florestal.gov.br/pt-br/?option=com_madeirasbrasileiras&view=especieestudada&especieestudadaid=127>. Acesso em: 12 jan. 2024.

LUSTRE SÁNCHEZ, Hermes. Los superpoderes de las plantas: los metabolitos secundarios en su adaptación y defensa. **Revista digital universitaria**, Ciudad de México, v. 23, n. 2, 2022.

MARTINS, Alberto. Madeira de lei. **Literatura e Sociedade**, São Paulo, v. 23, n. 26, p. 92-93, 2018.

MARTINS, Letícia Alves *et al.* Levantamento de Plantas Medicinais Utilizadas para Infecções no Município de Rondonópolis-MT.. **Biodiversidade**, v. 21, n. 3, 2022.

MOLINARO, Etelcia Moraes *et al.* Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde. **Arca: Repositório Institucional da Fiocruz**. v. 4. 2009.

MONNERAT, R. *et al.* Manual de produção e controle de qualidade de produtos biológicos à base de bactérias do gênero *Bacillus* para uso na agricultura. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**. Brasília, 2020.

NASCIMENTO, MS do *et al.* Phenolic extractives and natural resistance of wood. **Biodegradation-Life of Science**, Internet, v. 801, p. 349-371, 2013.

OLIVEIRA, Hellen Alexandre de. Determinação de constituintes químicos e extrativos das madeiras de espécies florestais Amazônicas. In: **II Congresso de Iniciação Científica PIBIC/CNPq-PAIC/FAPEAM**. Manaus, 2013.

OLIVEIRA, JC De. Atlas de micologia médica. **Rio de Janeiro: Fundação Biblioteca Nacional**, 2013.

OLIVEIRA, L.F.; MAIOR, J. F. A. S.; DRESCH, R. R. **Farmacognosia Pura I**. Brasil: Sagah, p. 311, 2018.

OLIVEIRA, Luciana Santos de. **Estudo Químico e Biológico da Madeira de lei Hymenolobium petraeum (Angelim pedra)**. 2011. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

OLIVEIRA, Luciene Zagalo de *et al.* Aspectos morfológicos de frutos, sementes, germinação e plântulas de Hymenolobium petraeum. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 40, p. 1732-1740, 2010.

PACHECO BORGES, Larissa; ALVES AMORIM, Víctor. Metabólitos Secundários de Plantas. **Revista Agrotecnologia**, Ipameri, v. 11, n. 1, 2020.

PACHECO, Franklin; PERAZA, María; PINTO, Ibis. Flavonoides: micronutrientes con amplia actividad biológica. **Revista de la Facultad de Medicina**, v. 44, n. 1, 2021.
PAULA, Thaís da Costa *et al.* Resistência de espécies arbóreas tropicais à ação de fungos. 2020. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

PEDRAZZI, Cristiane *et al.* **Química da Madeira**: 1ª Edição. Santa Maria: UFSM, 2019.

PEREIRA, Renata Junqueira; DAS GRAÇAS CARDOSO, Maria. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of biotechnology and biodiversity**, v. 3, n. 4, 2012.

RICACZESKI, Cecilia Claudete. Produção de enzimas ligninolíticas a partir de um processo fermentativo em efluente têxtil por *Phanerochaete chrysosporium*. 2020. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

SANTOS, Isac Gabriel Cunha dos. Diversidade genética e potencial deteriorante de fungos leveduriformes e filamentosos isolados em queijos tipo minas frescal comercializados informalmente na região norte do Tocantins. 2021. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Tocantins.

SANTOS, Taís Araújo. Faboidea na flora aquática e palustre do recôncavo da Bahia. Orientadora: Lidyanne Yuriko Saleme Aona. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso - Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo Baiano, Feira de Santana, 2019.

SAQUIB, Shahabe Abullais *et al.* Evaluation and comparison of antibacterial efficacy of herbal extracts in combination with antibiotics on periodontal pathobionts: an in vitro microbiological study. **Antibiotics**, v. 8, n. 3, p. 89, 2019.

SCÁRDUA, Fernando Paiva *et al.* Taninos vegetais ou polifenóis. 1ª Edição. Diamantina: A Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 2021.

- SHAMSUDIN, Nur Farisya *et al.* Antibacterial effects of flavonoids and their structure-activity relationship study: A comparative interpretation. **Molecules**, v. 27, n. 4, p. 1149, 2022.
- SILVA, AC da; LIMA, EPC de; BATISTA, Henrique Rogê. A importância da soja para o agronegócio brasileiro: uma análise sob o enfoque da produção, emprego e exportação. **V Encontro de Economia Catarinense**. Associação de Pesquisadores em Economia Catarinense, Santa Catarina, 2011.
- SILVA, Danielle M. *et al.* Plant extracts display synergism with different classes of antibiotics. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, 2019.
- SILVÉRIO, Flaviano Oliveira *et al.* Metodologia de extração e determinação do teor de extrativos em madeiras de eucalipto. **Revista Árvore**, v. 30, p. 1009-1016, 2006.
- SINGH, Deepak; CHEN, Shulin. The white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*: conditions for the production of lignin-degrading enzymes. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 81, p. 399-417, 2008.
- SORAGNI, Larissa; BARNABE, Anderson Sena; DE CAMPOS MELLO, Tatiana Ribeiro. Doenças transmitidas por alimentos e participação da manipulação inadequada para sua ocorrência: uma revisão. **Estação Científica (UNIFAP)**. Amapá, v. 9, n. 2, p. 19-31, 2019.
- SOUSA, Vespasiano Yoji Kanzaki de. Bioprospecção de antimicrobianos entre bactérias ambientais e plantas medicinais da Amazônia. 2012. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília.
- STANGARLIN, J.R. *et al.* Indução de fitoalexinas em soja e sorgo por preparações de *Saccharomyces boulardii*. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v. 77, p. 91-98, 2020.
- SU, Yuan *et al.* *Bacillus subtilis*: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine. **Microbial cell factories**, v. 19, n. 1, p. 1-12, 2020.
- TAMASHIRO, Jorge Yoshio; ESCOBAR, Nicoll Andrea Gonzalez. Subfamília mimosoideae. **Taxon**, v. 52, p. 362-363, 2016.
- TAYSEER, Isra *et al.* Interaction of Folk Medicinal Plants with Levofloxacin against *Escherichia Coli*. **Journal of Pure & Applied Microbiology**, v. 14, n. 3, 2020.
- TEIXEIRA, Alysson Ribeiro *et al.* Resistência bacteriana relacionada ao uso indiscriminado de antibióticos. **Revista Saúde em Foco**. Terezinha, n. 11, p. 853-875, 2019.
- TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R; CASE, Christine L. **Microbiologia**. 12 Porto Alegre: Artmed, 2017.
- TRABULSI, LUIZ RICHARD, ed.; ALTERTHUM, Flavio.. **Microbiologia**.. 5.ed., revisada e atualizada. SÃO PAULO: Atheneu, 2008.

TRENO, Angelo. Microbiologia, Colorações Usadas em: São José do Rio Preto. **Act-Acadêmica de Ciência e Tecnologia**. Rio Preto, 2018.

TRIPATHI, A.; SRIVASTAVA, S. K. Ecofriendly treatment of azo dyes: biodecolorization using bacterial strains. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, v. 1, n. 1, p. 37, 2011.

VERDRENGH, Margareta *et al.* Phytoestrogen genistein as an anti-staphylococcal agent. **Microbes and infection**, v. 6, n. 1, p. 86-92, 2004.