



CENTRO UNIVERSITÁRIO LUTERANO DE PALMAS

Recredenciado pela Portaria Ministerial nº 3.607, de 17/10/05, D.O.U. nº 202, de 20/10/2005
ASSOCIAÇÃO EDUCACIONAL LUTERANA DO BRASIL

MAVIA GLASIELA SILVA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO AQUOSO DE
Allium sativum CONTRA CEPAS BACTERIANAS RESISTENTES DE
Staphylococcus aureus E *Pseudomonas aeruginosa* ISOLADAS NO HOSPITAL
GERAL PÚBLICO DE PALMAS – TO**

PALMAS – TO

2015/2

MAVIA GLASIELA SILVA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO AQUOSO DE
Allium sativum CONTRA CEPAS BACTERIANAS RESISTENTES DE
Staphylococcus aureus E *Pseudomonas aeruginosa* ISOLADAS NO HOSPITAL
GERAL PÚBLICO DE PALMAS – TO**

Monografia apresentada como requisito parcial para aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) em Ciências Farmacêuticas do curso de Farmácia, coordenado pela Prof^a. Me. Grace Priscila Pelissari Setti, no Centro Universitário Luterano de Palmas - CEULP/ULBRA sob orientação da Prof^a. Dra. Dayane Otero Rodrigues.

PALMAS – TO

2015/2

MAVIA GLASIELA SILVA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO AQUOSO DE
Allium sativum CONTRA CEPAS BACTERIANAS RESISTENTES DE
Staphylococcus aureus E *Pseudomonas aeruginosa* ISOLADAS NO HOSPITAL
GERAL PÚBLICO DE PALMAS – TO**

Monografia apresentada como requisito parcial para aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) em Ciências Farmacêuticas do curso de Farmácia, coordenado pela Prof.^a Me. Grace Priscila Pelissari Setti, no Centro Universitário Luterano de Palmas (CEULP/ULBRA).

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof^a.Dra. Dayane Otero Rodrigues.
Centro Universitário Luterano de Palmas – CEULP

Prof^a. Msc. Marta C. de Menezes Pavlak
Centro Universitário Luterano de Palmas – CEULP

Prof^o. Msc. Luiz Fernando Albarello
Centro Universitário Luterano de Palmas – CEULP

PALMAS – TO

2015/2

RESUMO

SILVA, Mavia Glasiela - **Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato aquoso de *Allium sativum* contra cepas bacterianas resistentes de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* isoladas no Hospital Geral de Palmas – TO**, 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso de Farmácia, Centro Universitário Luterano de Palmas, Palmas/TO, 2015.

O alho pertence ao gênero *Allium*, da família Liliaceae. É cultivado mundialmente e desde os tempos mais antigos lhe é atribuído propriedade medicinal. O alho é rico em compostos sulfurados e entre os seus inúmeros constituintes químicos, a alicina é o componente de maior destaque, sendo a ela atribuída a atividade antimicrobiana do alho, possivelmente em função da inibição da síntese de proteínas. Os antimicrobianos são uma classe de medicamentos utilizados contra agentes infecciosos como bactérias e fungos, que preferencialmente deveriam ter ação seletiva e não induzir resistência. Contudo, a prevalência de microrganismos resistentes a múltiplas drogas tem aumentado tornando necessário o desenvolvimento de novos fármacos. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana do alho contra cepas bacterianas resistentes de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* isoladas no Hospital Geral Público de Palmas - TO. Para tanto, foi avaliado o perfil de resistência dos microrganismos em questão e a atividade antibacteriana do extrato aquoso do alho foi analisada pelo método de disco-difusão, sendo também determinada a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM). Na triagem antimicrobiana realizada com o extrato aquoso de alho, o diâmetro do halo de inibição de crescimento foi de 15 mm para a *P. aeruginosa* e 21 mm para o *S. aureus*. Já os resultados obtidos para a Concentração Inibitória Mínima e a Concentração Bactericida Mínima foram de 10mg para o *S. aureus* e 20mg para *P. aeruginosa*. Os resultados demonstraram que o alho teve efetividade contra as cepas bacterianas analisadas. Portanto, o alho apresenta-se como uma alternativa promissora para o tratamento de infecções causadas por bactérias Gram positivas e negativas.

Palavras chaves: Alicina. *Allium sativum*. Hospital.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Flor e planta do alho	10
Figura 2 - Antibiograma de cepa de <i>p. aeruginosa</i> (2a) e <i>s. aureus</i> (2b) obtidas de superfícies da UTI pediátrica do Hospital Geral Público de Palmas, TO.....	23
Figura 3 - Triagem antimicrobiana com o extrato do alho	26
Figura 4 - Determinação da CIM /CBM do extrato do alho contra <i>p. aeruginosa</i> (4a) e <i>s. aureus</i> (4b)	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição centesimal do alho	11
Tabela 2 - Constituintes sulfurados do alho e suas possíveis atividades biológicas.	12
Tabela 3 - Classificação dos antimicrobianos em função das variáveis	15
Tabela 4 - Perfil de resistência dos microrganismos analisados frente aos antimicrobianos utilizados	23
Tabela 5 - Avaliação da atividade antimicrobiana do alho frente aos microrganismos analisados	26

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 OBJETIVOS.....	9
2.1 Objetivo Geral	9
2.2 Objetivos Específicos	9
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	10
3.1 Alho (<i>Allium sativum</i>).....	10
3.1.1 A alicina	14
3.2 Antimicrobiano.....	15
3.3 Bactérias hospitalares e resistência bacteriana	16
3.4 Atividade antibacteriana do alho contra cepas de origem hospitalar.....	19
4 METODOLOGIA	20
4.1 Tipo de Pesquisa.....	20
4.2 Local e Período	20
4.3 Linhagens bacterianas.....	20
4.4 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos	20
4.5 Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato do alho.....	21
4.5.1 Forma de obtenção do extrato	21
4.5.2 Preparo do inóculo	21
4.5.3 Triagem antimicrobiana	21
4.5.4 Determinação da CIM.....	22
4.5.5 Determinação CBM	22
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
6 CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

O surgimento da resistência microbiana constitui um grande desafio terapêutico e uma preocupação mundial, pois, simultaneamente ao seu aumento, houve uma diminuição no desenvolvimento de novos fármacos antimicrobianos (ARAÚJO, 2011; SUFFREDINI; VARELLA; YOUNES, 2007).

Em vista disso, trabalhos vêm sendo desenvolvidos com o propósito de identificar nas plantas substâncias com propriedades antimicrobianas (ARAÚJO, 2011; SUFFREDINI; VARELLA; YOUNES, 2007), uma vez que estas produzem inúmeras substâncias biologicamente ativas, e muitos vegetais contêm compostos que são inibidores do crescimento microbiano, de modo que os produtos de origem vegetal são uma fonte importante de recursos (SANTIAGO; FELÍCIO; SOARES, 2011).

A utilização do alho como planta medicinal e como ingrediente para uso culinário existe desde a antiguidade (CONCEIÇÃO, 2013), assim, chegou-se à conclusão de que a grande riqueza do alho se encontra nos seus componentes, especialmente nos derivados de enxofre, sendo que o componente mais relevante é a alicina, responsável pela maioria das propriedades farmacológicas da planta. (REVISTA ADITIVOS E INGREDIENTES, 2010).

A maioria dos componentes sulfurados não está presente nas células intactas. Somente quando as células do bulbo são rompidas e que a aliina é convertida em alicina por ação da enzima alinase (SCHULZ; HANSEL; TYLER, 2002), tornando-se ativa.

A atividade terapêutica do alho é bastante extensa, além de antimicrobiano, o alho pode combater patologias endócrinas, cardiovasculares, pode atuar como anti-neoplásico e também apresenta efeitos anti-helmínticos, antioxidantes e imunológicos (KATZUNG, 2005; MARCHIORI (b), 2005).

Atualmente a atividade antimicrobiana do alho está bem documentada (KARUPIAH E RAJARAM, 2012; ABUBAKAR, 2009). Além de o alho exercer largo espectro de atividade contra muitas espécies de bactérias, incluindo algumas linhagens resistentes a antimicrobianos convencionais, como por exemplo, o *Helicobacter pylori*, o *Staphylococcus aureus* e a *Pseudomonas aeruginosa*. (GULL et al, 2012; SIVAM, 2001), a capacidade antimicrobiana do alho é tal que a atividade antibiótica de 1 mg de alicina tem sido igualada à 15 UI de penicilina (SILVA, 2009).

Assim sendo, a pesquisa de novos agentes antimicrobianos faz-se necessária devido ao aumento da incidência das infecções microbianas, causadas por cepas resistentes às principais drogas clinicamente utilizadas, sendo esse fato agravado pelo uso corriqueiro de muitas dessas drogas, podendo associar-se ainda, os efeitos colaterais e os altos custos dos antimicrobianos.

Nesse contexto, o alho tem se destacado por apresentar bioatividade relevante com potencial antimicrobiano, podendo vir a ser uma fonte alternativa de tratamento. E por se tratar de origem natural, espera-se que possa causar menores danos ao organismo. Portanto, as informações a respeito da propriedade antimicrobiana do alho podem fornecer um campo fértil para sua utilização.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Analisar “*in vitro*” a atividade antimicrobiana do extrato aquoso de alho frente às cepas bacterianas hospitalares resistentes de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar o perfil de resistência, frente aos antimicrobianos dos microrganismos analisados;
- Realizar a triagem da atividade antimicrobiana do extrato aquoso do alho frente às cepas bacterianas;
- Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) para os microrganismos que demonstrarem ser sensíveis ao extrato de alho.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Alho (*Allium sativum*)

Originário da Ásia central, o alho é uma planta perene que pertence ao gênero *Allium*, da família Liliaceae (LORENZI; MATOS, 2008). Esta planta, de cheiro forte e característico que pode atingir até 70 cm de altura, constitui-se de bulbos e bulbilhos denominados de dentes de alho, folhas longas e lineares, e, flores brancas ou avermelhadas dispostas em umbela, conforme ilustrado na Figura 1 (LORENZI; MATOS, 2008; EJA et al, 2007; MARTINS et al, 1995).

É largamente cultivado em todo mundo e desde os tempos mais remotos, o alho é também conhecido por suas propriedades alimentares e medicinais (LORENZI; MATOS, 2008; EJA et al, 2007).

Figura 1- Flor e Planta do alho



Fonte: MUNDO HORTA, 2015.

O alho apresenta uma grande variedade de constituintes químicos em que o tipo e a concentração podem variar de acordo com a época de plantio, práticas de cultivo, condições climáticas e de processamento, armazenamento e manipulação (CONCEIÇÃO, 2013; MARCHIORI (a), 2005). Assim, os constituintes majoritários do alho compreendem a alicina e seus derivados e em diferentes proporções podem ser encontrados também outros compostos, os quais estão relacionados na Tabela 1 (CONCEIÇÃO, 2013; MARCHIORI (a), 2005).

Tabela 1- Composição centesimal do alho

Constituintes	Quantidade
Carboidratos	23,9 g
Proteínas	7,0 g
Lipídeos	0,2 g
Fibras alimentar	4,3 g
Potássio	535 mg
Fósforo	149 mg
Magnésio	21 mg
Cálcio	14 mg
Sódio	5 mg
Ferro	0,8 mg

Fonte: TACO, 2011

Entre os constituintes, observa-se na tabela 1 que o alho contém uma grande quantidade de carboidrato, nutriente fundamental para otimização dos estoques iniciais de glicogênio, para a manutenção dos níveis de glicose sanguínea e repor reservas de glicogênio que podem ser perdidas durante o dia (AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION, 2001).

Também, no alho, conforme ilustrado na tabela 1, encontram-se minerais como potássio que facilita a contração muscular, as transmissões nervosas, além de ajudar a manter um batimento cardíaco normal e regular os níveis de acidez no sangue, porém, uma das principais funções do potássio é a de diminuir os efeitos do íon sódio no organismo, mantendo a pressão arterial normal (INTERNATIONAL POTASH INSTITUTE, 2013).

O fósforo é outro mineral presente no alho e em outras fontes proteicas de origem animal, como as carnes vermelhas e brancas e os produtos lácteos, sendo que no leite, a biodisponibilidade pode variar de 65 a 90%, sendo mais biodisponível no leite humano que no de vaca (COZZOLINO, 2007).

O consumo de alho como alimento é seguro, de modo que um a dois dentes de alho cru por dia podem ser consumidos sem restrição para adultos (SILVA, 2009). Quando consumido em excesso, o alho pode causar transtornos gastrintestinais, como úlceras gástricas e hemorragias intestinais, flatulências e mudanças na microbiota (TSAI; CHEN; SHEEN, 2012; SILVA, 2009)

Também, nos últimos anos, seu potencial alergênico tem sido bastante reconhecido, sendo associado ao uso do alho casos de reações alérgicas como, por exemplo, dermatite de contato, asma, urticária, pênfigo e anafilaxia (TSAI; CHEN; SHEEN, 2012; SILVA, 2009).

Leonêz (2008) afirma que ainda não há consenso quanto à recomendação da ingestão diária de alho que deve ser consumida, uma vez que, sua recomendação depende da utilização terapêutica em questão. Leonêz (2008) ainda cita que o Ministério da Saúde do Canadá, bem como a Agência Federal Alemã, sugerem que a ingestão de quatro gramas de alho cru ou oito miligramas de óleos essenciais são suficientes para a prevenção de fatores de risco cardiovascular.

O alho contém cerca de 30 compostos organossulfurados, os quais estão presentes em quantidade três vezes maiores do que em outros vegetais ricos nestes compostos como, por exemplo, a cebola, os brócolis e a couve-flor (SILVA, 2009; MORETTI e MATTOS, 2010).

Além de ser um ingrediente muito utilizado na culinária e acessível economicamente, têm - se atribuído aos compostos organossulfurados, abundante nos tecidos desta espécie, propriedades antitrombóticas, antifúngica, antibacteriana, antioxidante, hipotensora, cardioprotetora, hipoglicemiante e anticancerígena (LORENZI e MATOS, 2008; MIRON et al., 2002).

Na Tabela 2 encontram-se alguns constituintes do alho e suas possíveis atividades biológicas.

Tabela 2- Constituintes sulfurados do alho e suas possíveis atividades biológicas

Constituintes	Possível atividade biológica
Aliina	Hipotensora; hipoglicemiante.
Ajoeno (ajocisteína)	Prevenção de coágulos; anti-inflamatória; vasodilatadora; hipotensora; antibiótica.
Alicina e tiosulfatos	Antibiótica; antifúngica; antiviral.
Alilmercapteno	Hipocolesterolemiantes
Dialil sulfeto	Hipocolesterolemiantes; previne os danos químicos ao DNA.
S-alil-cisteína e compostos g-glutâmico	Hipocolesterolemiantes; antioxidante; quimio-protetora frente ao câncer.

Fonte: GÓMEZ; SÁNCHEZ-MUNIZ, 2000.

Observando a tabela 2, destacam-se dois constituintes do alho que possuem atividades biológicas importantes no organismo, que são aliina e o alilmercapteno.

A aliina é um sulfóxido que quando o alho é esmagado durante o preparo de alimentos, por exemplo, entra em contato com a enzima alinase sendo convertida a alicina. Esta representa 70 % dos compostos sulfatados existentes no alho (ISIDÓRIO, 2014). Uma de suas características é a de regular a pressão arterial por reduzir a pressão sanguínea uma vez que proporciona o relaxamento das células do músculo liso em torno do vaso sanguíneo (BORLINGHAUS et al, 2014).

Outra ação da Aliina é como hipoglicemiante, pois, quando ativada, diminui a concentração de glicose na corrente sanguínea (DALONSO et al, 2009).

O alilmercapteno é um agente protetor e impede que o colesterol se fixe nas paredes dos vasos sanguíneos, diminuindo as chances de formação de placas arteroscleróticas, tendo como principal ação a diminuição do colesterol em caso de ingestão diária (PRATI, 2012).

As características antissépticas do alho foram constatadas pelo químico francês Louis Pasteur, sendo esta informação utilizada na Primeira e Segunda Guerra Mundial (REVISTA ADITIVOS E INGREDIENTES, 2010). No entanto, os estudos com o alho foram abandonados com o desenvolvimento de antibióticos durante a Segunda Guerra, até que, recentemente com o surgimento de microrganismos resistentes, o interesse pelo alho foi renovado (REVISTA ADITIVOS E INGREDIENTES, 2010; LEONÉZ, 2008).

O efeito antimicrobiano do alho em diferentes preparações tem sido relatado em vários estudos, como por exemplo, Abubakar (2009), testou a eficácia do alho em extrato aquoso, etanólico e clorofórmico contra cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* e foi observado que todos os extratos inibiram o crescimento das bactérias.

Indu e colaboradores (2006) observaram a atividade antibacteriana do extrato de alho em 20 sorotipos de *Escherichia coli*, 8 sorotipos de *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* e *Aeromonas hydrophila* em que o extrato de alho apresentou atividade antimicrobiana contra todos os microrganismos testados.

Um estudo realizado por Moghadon e colaboradores (2014), com 10 estirpes de *Helicobacter pylori* isolados a partir de pacientes com patologias gastroduodenais, demonstrou que o extrato aquoso de alho foi capaz de inibir o crescimento de todos os isolados de *Helicobacter pylori*. Segundo o autor esses

achados podem ajudar a delinear uma nova estratégia para o tratamento de úlcera péptica.

A atividade antimicrobiana do alho é reduzida quando há redução da alicina e de seus derivados, demonstrando assim que os tiosulfonatos contidos no alho exercem um importante papel na atividade antimicrobiana (SIVAM, 2001).

3.1.1 A alicina

A formação da alicina (dialiltiosulfonato), principal constituinte do alho, ocorre quando os bulbilhos são esmagados ou triturados permitindo que seu precursor, a aliina, entre em contato com a enzima alinase, sendo assim convertida em alicina (CONCEIÇÃO, 2013; LIMA, 2011).

Por sua vez, a alicina é muito instável quimicamente e na presença do ar, da água e de temperaturas elevadas transforma-se rapidamente em outras moléculas organosulfuradas como o ajoeno, o sulfeto dialila, o dissulfeto de dialila (DAS), o trissulfetodialila (DATS) entre outros que juntamente com a alicina são responsáveis pela atividade biológica do alho (CONCEIÇÃO, 2013; LIMA, 2011; MIRON et al, 2002).

Fujisawa e colaboradores (2008) realizaram um estudo para averiguar a estabilidade da alicina em diversos tipos de solventes, no qual constatou-se que o tempo de meia vida da alicina foi de 6,5 dias para a extração com água; 3,1 dias para a extração com óleo vegetal e de 12,0 e 11,9, dias para a extração com etanol a 20%, 50%, respectivamente.

No entanto, em função da instabilidade da alicina, os métodos conhecidos para a sua síntese não são satisfatórios, pelo fato da síntese química envolver muitos passos e ser complicada, trabalhosa, dispendiosa e ainda ineficiente (WILLIAMS e PANT, 2007).

Quanto ao mecanismo de ação da alicina, os estudos ainda não são conclusivos, contudo, a teoria mais provável é que a alicina atue na síntese de proteínas (BORLINGHAUS et al, 2014; FELDBERG et al, 1988).

Deste modo, a possível influência da alicina na síntese de proteínas consiste em que, o resíduo de cisteína acessível ao ataque reage com a alicina por meio de uma reação de permuta de dissulfureto (BORLINGHAUS et al, 2014). A alicina pode atacar os resíduos de cisteína enquanto as cadeias de aminoácidos são alongadas,

ainda no processo de síntese, não estando totalmente desenvolvida e como possível resultado será um aborto de tradução ou formação de proteínas deformadas com reduzida ou nenhuma função (BORLINGHAUS et al, 2014).

3.2 Antimicrobiano

Os termos antimicrobiano e anti-infeccioso são ocasionalmente utilizados para referir-se à todas as drogas utilizadas contra agentes infecciosos, e ainda, os termos antibióticos e quimioterápicos são usados como sinônimos (SILVA, 2013).

Os antimicrobianos são substâncias produzidas por bactérias ou fungos (antibióticos) ou ainda sintetizadas em laboratório (quimioterápicos) capazes de inibir o crescimento e/ou os destruir microrganismos, sendo assim, o principal objetivo é o de prevenir ou tratar uma infecção, diminuindo ou eliminando os organismos patogênicos (MELO; DUARTE; SOARES, 2012; BRASIL, 2001). Podem ser classificados a partir de diversas variáveis como demonstrado na Tabela 3.

Tabela 3- Classificação dos antimicrobianos em função das variáveis.

Variável	Classificação
Microrganismos suscetíveis	Antibacterianos Antifúngicos Antivirais Antiparasitário
Origem do antimicrobiano	Antibióticos: produzidos por microrganismos Quimioterápicos: sintetizados em laboratório
Mecanismo de ação	Alteração de parede celular Alteração de membrana citoplasmática Inibição da síntese proteica Inibição metabólica
Espectro de ação	Espectro para bactérias Gram positivas Espectro para bactérias Gram negativas Amplio espectro Ativos sobre protozoários Ativos sobre fungos Ativo sobre micobactérias

Fonte: MELO; DUARTE; SOARES, 2012.

Entre as classes mais conhecidas e utilizadas de antimicrobianos estão os antibacterianos e antifúngicos, em que os principais agentes antibacterianos se agrupam nas seguintes categorias:

Inibição da síntese de parede celular (penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos e vancomicina); lesão da membrana citoplasmática (polimixinas); modificação da síntese ou metabolismo de ácidos nucleicos (quinolonas, rifampicina e nitrofurantoína); inibição da síntese proteica (aminoglicosídeos, tetraciclina, clorafenicol e clindamicina); inibidores do folato ou modificadores do metabolismo de energia (sulfonamidas e trimetoprima) (GENNARO, 2012 p. 1571).

Enquanto que os antifúngicos se agrupam em: poliênicos (nistatina, anfotericina B); derivados azólicos (miconazol, clotrimazol, cetoconazol, fluconazol); antimetabólito (flucitosina) e benzofurano heterocíclico (griseofulvina) (SILVA, 2013).

Um antimicrobiano ideal deve ter ação seletiva, não produzir graves efeitos adversos, não induzir resistência do microrganismo, ser eficaz por via oral e parenteral e ser capaz de atingir o sítio de infecção (UFMG, 2013). No entanto, é difícil encontrar um antimicrobiano ideal, de modo que, o antimicrobiano de escolha é o que se adapta à realidade, levando em consideração as condições gerais do paciente, tratando-se da droga mais ativa, menos tóxica, de menor custo e que seja capaz de atingir o local da infecção (UFMG, 2013).

O desenvolvimento de drogas antimicrobianas representa um dos mais importantes avanços da terapêutica (SILVA, 2013). A prescrição excessiva e o uso inapropriado de antibióticos causou um aumento significativo na prevalência de microrganismos resistentes a múltiplos fármacos e à medida que cresceram as necessidades de fármacos, o desenvolvimento de novas drogas diminuiu, de modo que ainda há uma dependência das famílias de drogas atualmente disponíveis (SILVA, 2013; KATZUNG, 2005).

As doenças infecciosas são uma das principais causas de morte no mundo, sendo de considerável importância o desenvolvimento de novos compostos antimicrobianos (MIRANDA et al, 2013). Neste contexto, as plantas podem ser uma boa fonte para nortear a busca por compostos promissores (MIRANDA et al., 2013). A rica diversidade, a fácil acessibilidade e o baixo custo de produtos naturais de origem vegetal, já faz com que muitos países invistam em pesquisas para a obtenção de substâncias com atividade antimicrobiana advinda de plantas já conhecidas popularmente (MALVEZZI, 2010), como por exemplo, o alho.

3.3 Bactérias hospitalares e resistência bacteriana

As bactérias fazem parte da vida na Terra e são encontradas em todos os lugares, revestem pele, mucosas e cobrem o trato intestinal de homens e animais, estando relacionadas ao ambiente em que vivem (SANTOS, 2003). Muitas são inofensivas, sendo até benéficas para o hospedeiro, como a microbiota, provendo nutrientes e proteção contra patógenos ou substâncias ofensivas, impedindo que haja a colonização de outras bactérias que poderiam ser nocivas (SANTOS, 2003).

Esse equilíbrio, ao ser quebrado, seja pelo uso excessivo de antibióticos ou queda da imunidade, pode desencadear uma infecção, como relatado por Pinto; Cardoso; Vanetti (2004), que afirma que aproximadamente 50% das infecções que acometem pacientes hospitalizados são causadas por microrganismos hospitalares que colonizam o trato gastrointestinal.

Nesse cenário quando há a introdução de antibióticos indiscriminadamente, especificamente nos ambientes hospitalares, as bactérias resistentes são selecionadas e sobrepõem seu crescimento sobre outras competidoras (KOCH et al, 2008).

Entre as bactérias hospitalares, é possível observar um grande aumento de fenótipos multirresistentes, como a *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KCP), da família *Enterobacteriaceae* (MOLAND, et al, 2003). A carbapenemase é uma enzima produzida por bactérias Gram-negativas e sua detecção em isolado bacteriano confere resistência aos antimicrobianos carbapenêmicos, além de inativar penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos (MOLAND, et al, 2003).

Outra bactéria dentre as resistentes de importância hospitalar é o *Staphylococcus aureus*, um microrganismo que integra a microbiota normal, mas pode apresentar-se como patogênico quando em condições com uma quebra da barreira cutânea ou diminuição da imunidade, o que ocorre geralmente em internações curtas ou prolongadas (PERES et al, 2014).

O *Staphylococcus aureus* é responsável por uma grande variedade de infecções, como infecções na pele e no tecido subcutâneo, infecções pós-cirúrgicas, osteomielites, pneumonias, abscessos, endocardites e bacteremia, sendo umas das causas mais comuns de infecções nosocomiais, bem como de infecções comunitárias que podem apresentar altos índices de morbidade e mortalidade (SANTOS, 2007).

Após a terapia antimicrobiana ser iniciada na década de 1930, contra amostras de *S. aureus*, em 1960 foram detectados isolados resistentes ao antimicrobiano utilizado na época que no caso fora a penicilina, então se iniciou uma terapia com um beta-lactâmico sintético, a meticilina, resistente à ação das beta-lactamases que o *S. aureus* produzia (GELATTI et al, 2009). Porém, após algum tempo, surgiram amostras resistentes também a esse antimicrobiano, e estas cepas foram denominadas de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) e são resistentes a todos os antimicrobianos beta-lactâmicos (GELATTI et al, 2009).

Muitas infecções causadas por bactérias patogênicas conhecidas ou infecções causadas por alguns patógenos reemergentes, como por exemplo, o *Mycobacterium tuberculosis*, não podem ser curadas prontamente com as drogas antimicrobianas existentes, sendo necessários estudos contínuos em busca de novas drogas antimicrobianas (GOLL e FARIA, 2013).

Nesse contexto de bactérias multirresistentes, destacam-se as amostras de *Pseudomonas aeruginosa*, uma bactéria Gram-negativa, extremamente versátil, que pode ser encontrada em diversos ambientes, principalmente solo e água, ou ainda associada a plantas e animais, podendo causar infecções oportunistas (APIDIANAKIS et al, 2005).

Em seres humanos, a *P. aeruginosa* causa infecções em indivíduos imunocomprometidos, além de ser também comumente encontrada em infecções hospitalares, sendo capaz de se aderir a diversos materiais, contaminando catéteres, ventiladores, próteses e lentes de contato. Por causa da alta resistência a antibióticos e do grande arsenal de fatores de virulência desta bactéria, as infecções causadas por ela são de difícil controle (APIDIANAKIS et al, 2005).

Em se tratando de resistência bacteriana, vale ressaltar que de acordo a Organização Mundial de Saúde (OMS), os antimicrobianos fazem parte da lista de medicamentos mais prescritos no mundo (OMS, 2014). Uma das principais formas de uso é no combate de determinados microrganismos, e de acordo com Kadosaki, Souza e Borges (2012), a maioria das prescrições e uso se dá baseado apenas em dados clínicos, sem sequer a solicitação de exames laboratoriais afim de diagnósticos.

Esse fato influencia num aumento da resistência aos antimicrobianos, já que a resistência bacteriana é uma natural consequência da habilidade da população bacteriana de se adaptar (FONSECA et al, 2014). Por isso, o uso indiscriminado de antibióticos irá aumentar essa pressão seletiva e, considerando o aumento da resistência aos antimicrobianos em uso, as plantas medicinais têm sido estudadas como agentes alternativos para a prevenção de doenças e tratamento de infecções fazendo com que estudos com bioativos, como o extrato do alho, sejam campos promissores de pesquisa (FONSECA et al, 2014).

3.4 Atividade antibacteriana do alho contra cepas de origem hospitalar

Durante anos o homem passou a utilizar produtos naturais, em formas puras ou através de extratos (PAREKH e CHANDA, 2007). Alguns desses compostos bioativos acabaram por ser isolados devido ao seu potencial terapêutico no combate a microrganismos patogênicos, principalmente os que são de origem hospitalar (PAREKH e CHANDA, 2007). Dentre alguns estudos, esses demonstraram que *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis* e *Pseudomonas aeruginosa* são considerados principais agentes causadores de infecções hospitalares (SAMPAIO et al, 2013).

Passos em 2003 realizou um estudo sobre a atividade antibacteriana do alho e concluiu que o alho apresenta efeito inibitório sobre o desenvolvimento microbiano, este fato foi comprovado por outros estudos como o de VENTUROSO et al, 2010).

Em um de seus estudos sobre a atividade antibacteriana do alho, Abubakar (2009), investigou os efeitos do extrato de alho contra cepas de *S. aureus*, *E. coli*, *S. Pneumoniae* e *P. aeruginosa* de origem hospitalar, que foram investigados sob diversas condições de utilização, tais como variações de temperatura e pH, a uma concentração de 100 mg/ml. No estudo, foi possível perceber que todos os extratos brutos inibiram o crescimento das bactérias patogênicas, embora com diferentes graus de susceptibilidade.

Almeida e colaboradores (2013) analisaram “*in vitro*” a influência da atividade do extrato aquoso de *Allium sativum* no teste da Concentração Inibitória Mínima, em cepas de *S. aureus*, e seu efeito sinérgico com vancomicina, gentamicina e tetraciclina. A partir dos resultados, foi possível perceber que o extrato aquoso do alho é eficaz em potencializar a ação dos antibióticos testados frente ao crescimento da cepa de *S. aureus*.

Grosso e Lima (2013) realizaram um estudo no qual procuraram determinar a ação antimicrobiana do extrato bruto de *Allium sativum*, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de pacientes de um Hospital Escola do sul de Minas Gerais. Nesse estudo, concluíram que o extrato bruto de *Allium sativum* possui ação antimicrobiana para *Staphylococcus aureus*, independente de sua concentração.

Sendo assim, a partir dos estudos citados, o alho parece ser uma fonte alternativa e promissora no combate de infecções adquiridas tanto na comunidade quanto as de origem hospitalar.

4 METODOLOGIA

4.1 Tipo de Pesquisa

O presente trabalho consiste de um estudo experimental quantitativo, com o propósito de avaliar a capacidade do extrato aquoso de *Allium sativum* em inibir o crescimento de cepas bacterianas resistentes aos antibióticos, comuns ao ambiente hospitalar, isoladas do Hospital Geral Público de Palmas, TO em um estudo paralelo.

4.2 Local e Período

As atividades de pesquisa foram desenvolvidas no Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Luterano de Palmas (CEULP-ULBRA) no período de agosto a outubro de 2015.

4.3 Linhagens bacterianas

No presente estudo foi utilizada uma cepa de *Staphylococcus aureus* e outra de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de superfícies da UTI pediátrica do Hospital Geral Público de Palmas – TO, obtidas a partir de um trabalho paralelo. As duas cepas foram selecionadas a partir do antibiograma realizado com vinte e duas cepas de *S. aureus* e duas de *P. aeruginosa*.

4.4 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos

Foi realizada a metodologia proposta pelo “*Clinical and Laboratory Standards Institute*” (CLSI, 2012), com os seguintes discos de antimicrobianos:

- *S. aureus*: amicacina (30µg), ofloxacino (5µg), gentamicina (10 µg), vancomicina (30 µg), cefoxitina (30µg), ceftriaxona (30µg), clorafenicol (30µg), oxacilina (01µg), cefepime (30µg).

- *P. aeruginosa*: amicacina (30µg), ampicilina (10µg), ofloxacino (5µg), gentamicina (10 µg), ceftriaxona (30µg), cloranfenicol (30µg), cefepime (30µg).

Após a leitura do antibiograma, foi selecionada uma cepa de *S. aureus* e outra de *P. aeruginosa* que apresentou resistência a, no mínimo, 3 (três) classes diferentes de antibióticos, sendo encaminhadas para o teste de triagem antimicrobiana com o extrato do alho.

4.5 Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato do alho

4.5.1 Obtenção do extrato

O extrato foi obtido a partir do alho adquirido em supermercado da cidade e fora baseado no método descrito por Durairaj; Srinivasan; Lakshmanaperumalsamy, (2009), em que foram pesados 100g de alho descascado e posteriormente estes higienizados em álcool 70%, triturados com 100 ml de água destilada esterilizada e filtrados através de gaze esterilizada.

A concentração do extrato fora considerada como sendo 1g/ml. O extrato produzido foi colocado em vidro âmbar esterilizado e armazenado em geladeira para posterior utilização.

4.5.2 Preparo do inóculo

O inóculo bacteriano foi preparado de acordo o documento M 02- A11 do CLSI (2012), utilizando-se de três a cinco colônias selecionadas a partir de placas de ágar Mueller Hinton em crescimento exponencial, suspensas em solução salina com um padrão de turbidez de 0,5 na escala de McFarland cuja concentração final equivale a 1×10^8 UFC/ml.

4.5.3 Triagem antimicrobiana

A triagem da atividade antimicrobiana do extrato foi determinada utilizando o método de disco- difusão.

Com o auxílio de um swab estéril, o inóculo foi espalhado por toda a superfície do ágar Muller Hinton disposto em placa, de maneira a garantir uma distribuição uniforme.

Após a semeadura, os discos de papel filtro esterilizados, sem impregnação, foram colocados sobre as placas e pressionados suavemente para total contato com a superfície do ágar. Em cada disco foi colocado 20µl do extrato. As placas foram mantidas em estufa a 37° C por 24 horas. Em seguida, os halos de inibição foram quantificados em milímetros com o auxílio de uma régua milimetrada (FONSECA et al., 2014).

Como controle positivo, foram utilizadas amostras controles ATCCs de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

Para os microrganismos que demonstraram sensibilidade ao extrato, foram determinadas a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM).

4.5.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Para determinação da CIM, foram utilizadas concentrações de 2,5; 5,0; 10; 20; 40 e 80 mg/ml do extrato de alho, logo, foram utilizados 6 tubos de ensaio contendo 3 ml de caldo BHI, 1ml do extrato de alho e 1 ml do inóculo bacteriano totalizando um volume de 5 ml. Três tubos adicionais foram utilizados, sendo um para controle positivo de crescimento (caldo + inóculo), dois para controle negativo (um com apenas caldo e outro com apenas extrato) (MALVEZZI, 2010).

Todos os tubos foram incubados por 24 h em estufa bacteriológica a 37° C.

Após este tempo, os tubos foram examinados visualmente para comprovar a presença de turvação. O tubo com concentração imediatamente superior ao que apresentou turvação foi considerado como sendo a concentração inibitória mínima (VENÂNCIO, 2010).

4.5.5 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Dos tubos de ensaio que não se mostraram turvos, foram retiradas alíquotas de 5µL, as quais foram depositadas em placas de Petri contendo ágar Miller Hinton. A menor concentração do extrato que não proporcionou o crescimento bacteriano foi considerada como sendo a concentração bactericida mínima (VENÂNCIO, 2010).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diante do antibiograma realizado para avaliar o perfil de resistência das cepas bacterianas (Figura 2), foi possível encontrar os seguintes resultados conforme a tabela 4.

Figura 2- Antibiograma de cepa de *P. aeruginosa* (2a) e *S. aureus* (2b) obtidas de superfícies da UTI pediátrica do Hospital Geral Público de Palmas – TO

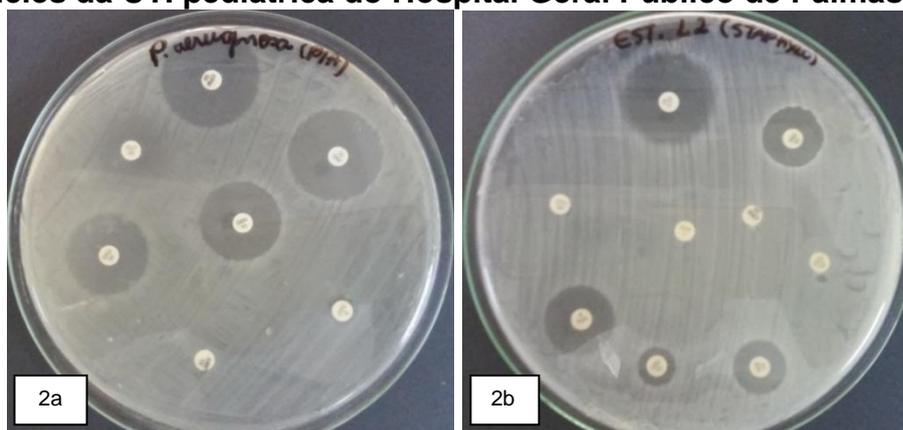


Tabela 4- Perfil de resistência dos microrganismos analisados frente aos antimicrobianos utilizados

ANTIMICROBIANOS	AMI N(%)	AMP N(%)	OFX N(%)	GEN N(%)	VAN N(%)	CFO N(%)	CRO N(%)	CLO N(%)	OXA N(%)	CPM N(%)
MICROORGANISMO										
<i>S.aureus</i> (n=22)	1 (4,5)	NR	10 (45,4)	4 (18)	0	10 (45,5)	11 (50)	3 (13,6)	11 (50)	11 (50)
<i>P. aeruginosa</i> (n=2)	0 (0)	1 (50)	1 (50)	0 (0)	NR	NR	0 (0)	2 (100)	NR	0 (0)

Amicacina (AMI), Ampicilina (AMP), Cefoxitina (CFO), Cefepime (CPM), Clorafenicol (CLO), Ceftriaxona (CRO), Gentamicina (GEN), Ofloxacino (OFX), Vancomicina (VAN), Oxacilina (OXA), não realizado (NR).

Das 22 cepas de *Staphylococcus aureus* analisadas, 63,6% (n14) apresentaram resistência a pelo menos uma classe de antimicrobiano. Observa-se que as amostras apresentaram resistência para aminoglicosídeos (AMI e GEN), cefalosporinas (CFO, CRO, CPM), fluorquinolona (OFX), penicilina (OXA) e ao clorafenicol (Tabela 4). 04 cepas (18,2%) apresentaram resistência a três classes de antimicrobianos que foram cefalosporinas, penicilina e aminoglicosídeos, sendo assim, são cepas consideradas multirresistentes.

A multirresistência também foi observada em uma amostra de *Pseudomonas aeruginosa*, a qual apresentou resistência em relação a três classes de antimicrobianos sendo eles penicilina (AMP), fluorquinolona (OFX) e ao clorafenicol.

Em um estudo, realizado por Figueiredo e colaboradores (2007) num hospital de Recife-PE, com 304 cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, no ano de 2006, detectou-se uma elevada prevalência de multirresistência, em que 49,7% das cepas foram resistentes a três antibióticos ou mais e 28% foram resistentes a seis antibióticos ou mais.

Ainda, observou-se uma taxa de resistência cruzada de 38,1% entre aminoglicosídeos e quinolonas, sendo a frequência de cepas multirresistentes a mesma discutida em outras literaturas nacionais e internacionais (FIGUEIREDO et al, 2007). No presente estudo, o número amostral de *P. aeruginosa* isolada foi bem abaixo do relatado por Figueiredo e colaboradores, no entanto, das duas amostras identificadas, uma se mostrou multirresistente.

Figueiredo e colaboradores (2007) concluíram que existem altas taxas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a múltiplos fármacos, o que gera uma dificuldade nas opções de fármacos para tratamentos combinados.

Fundamentado na afirmativa de que a frequência de cepas multirresistentes é semelhante no Brasil e no mundo, observam-se diversos estudos que fazem referência ao mesmo argumento, tais como o de Neves e colaboradores (2011) onde há referência sobre relatos mundiais dessa multirresistência, aliada a elevados índices de morbimortalidade. Os autores relatam que no Brasil, surtos de infecção ocasionados por *Pseudomonas aeruginosa* possuem opções terapêuticas limitadas, e que se restringem ao uso de carbapenêmicos.

Os autores (NEVES et al, 2011) fizeram referências a estudos epidemiológicos nacionais realizados pelo Antimicrobial Surveillance Program (SENTRY) direcionados a pacientes hospitalizados. Avaliaram 3.728 isolados, entre bactérias Gram positivas e Gram negativas, obtidos de 12 centros hospitalares de quatro estados, e a *P. aeruginosa* foi responsável por 496 (13,3%) casos.

Em um estudo retrospectivo na cidade de Goiânia – GO sobre a determinação da resistência antimicrobiana associada em isolados clínicos de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, constatou-se que entre 815 isolados de *S. aureus*, 65, 8% foram multirresistentes, sendo a maioria resistente a 5 e 6 antimicrobianos. Enquanto que, a resistência associada entre drogas foi notada

para isolados de *P. aeruginosa* entre ciprofloxacina e carbapenens, aminoglicosídeos e carbapenens e beta-lactâmicos. Os autores concluíram que é fundamental a escolha correta de um antimicrobiano para que o objetivo da terapia medicamentosa seja alcançado (KOBAYASHI; SADOYAMA; VIEIRA, 2009).

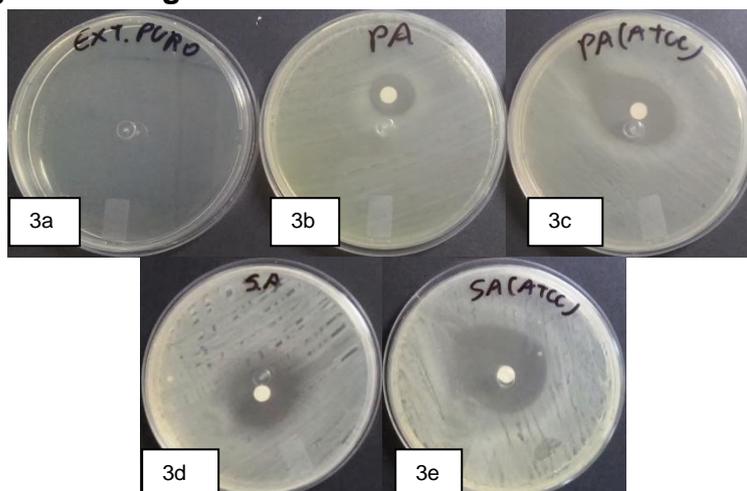
Outro estudo realizado por Santos e colaboradores, no ano de 2007, na cidade do Rio de Janeiro, sendo esse de revisão bibliográfica, constatou que o *Staphylococcus aureus* é uma bactéria que mesmo encontrada na pele e nas fossas nasais de pessoas saudáveis é capaz de provocar doenças, que vão desde uma simples infecção, como espinhas, até infecções graves, entre elas, meningite, endocardite e sepse. Na revisão realizada pelos autores foi percebido que a resistência de *S. aureus* a antimicrobianos acontece por mutações em seus genes e/ou aquisição de genes de resistência de outras bactérias da mesma espécie.

Os autores (SANTOS et al 2007) concluíram que o desenvolvimento de mecanismos de resistência aos antibióticos demonstrados pelo *S. aureus* está relacionado com os procedimentos empregados na sua antibioticoterapia. Sabe-se que os índices de cepas MRSA em hospitais brasileiros variam de 40% a 80%, e esse valor está maior em unidades de terapia intensiva. Dessa forma, a importância de conhecer uma cepa de valor epidemiológico para um ambiente hospitalar é extremamente necessário.

Visto a importância destes fenótipos multirresistentes em infecções ocasionando altos índices de morbi-mortalidade e antibioticoterapia limitada, uma alternativa promissora apontada nas pesquisas atuais (GUPTA et al., 2015) são os biótipos extraídos de plantas com atividade antimicrobiana como o alho.

No presente estudo, a figura 3 ilustra os resultados do teste da triagem antimicrobiana com o extrato do alho realizada com uma amostra de *S. aureus* e *P. aeruginosa* multirresistentes.

Figura 3- Triagem antimicrobiana com o extrato do alho



Extrato puro (3a); *P. aeruginosa* (3b); *P. aeruginosa* ATCC 27853 (3c); *S. aureus* (3d); *S. aureus* ATCC 25923 (3e)

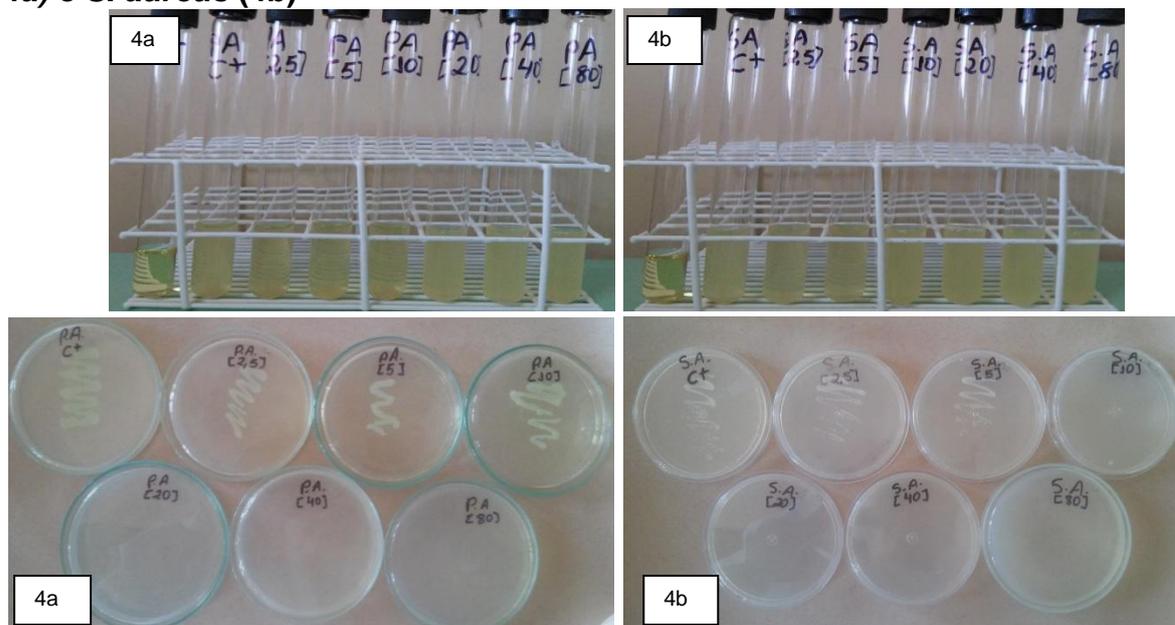
Na triagem antimicrobiana realizada com o extrato aquoso do alho, foi observado que ambas as bactérias apresentaram uma zona de inibição de crescimento com diâmetros de 15 e 21 mm para *P. aeruginosa* e *S. aureus* respectivamente (Tabela 6).

Tabela 5- Avaliação da atividade antimicrobiana do alho frente aos microrganismos analisados

Microrganismo	Diâmetro do halo de inibição (mm)	CIM (mg/ml)	CBM (mg/ml)
<i>P. aeruginosa</i>	15	20	20
<i>S. aureus</i>	21	10	10

Em relação a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano (CIM) e a menor concentração capaz de provocar a morte do microrganismo (CBM) (Figura 4), os resultados obtidos foram de 10 mg/ml para *S. aureus* e de 20 mg/ml para a *P. aeruginosa* (Tabela 5).

Figura 4- Determinação da CIM / CBM do extrato do alho contra *P. aeruginosa* (4a) e *S. aureus* (4b)



Em um estudo realizado em 2015 com extrato bruto de alho contra isolados clínicos multirresistentes, a efetividade do alho como antibacteriano ficou demonstrado, cujos halos de inibição de crescimento foram de 16-26 mm para os isolados de *S. aureus*, enquanto que os isolados de *P. aeruginosa* tiveram halos de 13-22 mm. A Concentração Inibitória mínima obtida foi de 35 mg/ml (GUPTA, 2015). Comparando à nossa pesquisa, nossos resultados foram similares em relação ao diâmetro do halo de inibição. Entretanto, a CIM obtida nessa pesquisa apresentou valores menores, 20 mg/ml para *P. aeruginosa* e 10 mg/ml para *S. aureus*.

Gull e colaboradores (2012) avaliaram a efetividade antibacteriana do extrato do alho em diferentes solventes em oito estirpes de bactérias resistentes, entre elas a *P. aeruginosa* e *S. aureus* em que os resultados das análises com extrato aquoso demonstraram uma zona de inibição de crescimento de 18, 3 mm e 19, 3 mm de diâmetro para os microrganismos respectivamente. Enquanto que a Concentração Inibitória Mínima foi de 0,09mg/ml para *P. aeruginosa* e 0,2 mg/ml para o *S. aureus*.

Karrupiah e Rajaram (2012) também avaliaram o extrato de alho em várias concentrações que variaram de 25µg/ml a 200 µg/ml contra bactérias multirresistentes. Nos resultados encontrados, os diâmetros dos halos de inibição de crescimento para *P. aeruginosa* variaram de 13,5 mm a 19,4 em função das várias concentrações utilizadas. Do mesmo modo, para cepa de *S. aureus*, os diâmetros dos halos variaram de 10,3mm a 14,5mm. Neste estudo, a Concentração Inibitória

Mínima foi de 58,5µg/ml e 78,9µg/ml para *P. aeruginosa* e *S. aureus* respectivamente.

Nos estudos citados, nenhum faz referência a Concentração Bactericida Mínima (CBM), porém, no presente estudo a CBM para o *S. aureus* foi de 10mg/ml, superior ao encontrado por Venâncio (2010), que foi de 4mg/ml.

No ano de 2009, Abubakar realizou um estudo com o objetivo de avaliar a eficácia de extratos de alho, contra bactérias Gram positiva e negativa, incluindo *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Constatou-se uma eficácia satisfatória acima da resistência média a muitos antimicrobianos. Dessa forma, o autor concluiu que o extrato do alho pode ser usado no tratamento de infecções causadas por bactérias podendo ser utilizado para o desenvolvimento de antibióticos de largo espectro.

Nota-se que houve variação de resultados tanto no presente estudo quanto nos autores citados. Porém, isso é justificado pelo fato de que pode haver discrepâncias na composição dos extratos, na proporção de aliina/alicina, durante a preparação e controle de qualidade destes extratos o que pode ocasionar interferência sobre a atividade antimicrobiana, mas, nada que faça com que o alho perca a efetividade contra os microrganismos testados.

6 CONCLUSÃO

Na triagem da atividade antimicrobiana do extrato aquoso do alho frente à cepa de *S. aureus* e *P. aeruginosa* isoladas da UTI pediátrica do Hospital Geral de Palmas – TO observou-se a formação de um halo de inibição de crescimento microbiano, refletindo uma efetividade do alho como alternativa antimicrobiana.

A Concentração Inibitória Mínima e a Concentração Bactericida Mínima encontradas apresentaram variações em relação à literatura científica, entretanto, é inegável que o alho apresenta boa efetividade frente às bactérias Gram negativas e positivas.

Dessa forma, o estudo sugere que o alho é um agente terapêutico promissor para o tratamento de bactérias multirresistentes, sendo interessante o investimento de antibióticos nessa linha de pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUBAKAR, E. M. Efficacy of crude extracts of garlic (*Allium sativum* Linn.) against nosocomial *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 3, n. 4, p. 179-185, 2009.

ALMEIDA, G. D.; GODOI, E. P.; SANTOS, E. C.; LIMA, L. R. P.; OLIVEIRA, M.E. Extrato aquoso de *Allium sativum* potencializa a ação dos antibióticos vancomicina, gentamicina e tetraciclina frente *Staphylococcus aureus*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 4, p. 487-492, 2013.

AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION. Nutrition and athletic performance. **Journal American Dietetic Association**, v.12, n.100, p.1543-1556, 2001.

APIDIANAKIS, Y.; MINDRINOS, M. N.; XIAO, W.; LAU, G. W.; BALDINI, R. L.; DAVIS, R. W.; RAHME, L. G. Profiling early infection responses: *Pseudomonas aeruginosa* eludes host defenses by suppressing antimicrobial peptide gene expression. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.102, n.7, p. 2573-2578, 2005.

ARAÚJO, I. S. **Atividade antimicrobiana de plantas aromáticas que ocorrem no Estado do Pará**. Dissertação (Mestre em Biotecnologia). Universidade Estadual de Feira de Santana. Feira de Santana – BA, 2011.

BORLINGHAUS, J.; ALBRECHT, F.; GRUHLKE, M. C. H.; NWACHUKWU, I. D.; SLUSARENKO, A. J. Allicin: Chemistry and Biological Properties. **Molecules**, v.19, p. 12591-12618, 2014.

BRASIL. Ministério da saúde. **Agencia Nacional de vigilância sanitária**. Consenso sobre o uso racional de antimicrobianos. Brasília – DF, 2001.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**. 11ed. EUA, 2012.

CONCEIÇÃO, S. F. S.M.; **Efeitos do gengibre, do alho e do funcho na saúde**. Dissertação (Mestre em ciências farmacêuticas). Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2013.

COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de nutrientes. SP: **Manole**, p. 67-175, 2007.

DALONSO N., IGNOWSKIE ; MONTEIRO C. M. A; GELSLEICHTER M; I WAGNER, T.M. SILVEIRA M. L. L, SILVAD. A. K. : Extração e caracterização de carboidratos presentes no alho (*Allium sativum* L.): proposta de metodologia alternativa. **Ciência Tecnologia e Alimentos**, v. 29 n. 4, p. 793-797, 2009.

DURAIRAJ, S; SRINIVASAN, S.; LAKSHMANAPERUMALSAMY, P. *In vitro* Antibacterial Activity and Stability of Garlic Extract at Different pH and Temperature. **Electronic Journal of Biology**, v. 5, n.1, p. 5-10, 2009.

EJA, M.E.; ASIKONG, B.; ABRIBA, C.; ARIKPO, G.; ANWAN, E.; ENYI-LDOH, K.; A Comparative assessment of the antimicrobial effects of garlic (*allium sativum*) and antibiotics on diarrheagenic organisms. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 38, n. 2, p. 343-348, 2007.

FELDBERG, R. S.; CHANG, S. C.; KATIC, A. N.; NALDER, M.; NEUWIRTH, Z.; SUNDSTROM, D. C.; THOMPSON, N. H. In Vitro Mechanism of Inhibition of Bacterial Cell Growth by Allicin. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 32; n. 12, p. 1763-1768, 1988.

FIGUEIREDO, E. A. P.; RAMOS, P.; MACIEL, M. A. V.; VILAR, M. C. M.; Loureiro, N. G.; Pereira, R. G. *Pseudomonas aeruginosa*: frequência de resistência a múltiplos fármacos e resistência cruzada entre antimicrobianos no Recife/PE. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 19, n. 4, p. 421-427, 2007.

FONSECA, G.M.; PASSOS, T.C.; NINAHUAMAN, M.F.M.L.; CAROCI, A.S; COSTA, L.S. Avaliação da atividade antimicrobiana do alho (*Allium sativum* Liliaceae) e de seu extrato aquoso. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Campinas, v.16, n.3, p. 679-684, 2014.

FUJISAWA, H.; SUMA, K.; ORIGUCHI, K.; KUMAGAI, H.; SEKI, T.; ARIGA, T. Estabilidade química e biológica de alicina derivados do alho **Journal of agricultural and food chemistry**, v.56, n.11, p. 4229-4235, 2008.

GENNARO, A. R. **Remington: A ciência e a prática da farmácia**. 20 ed. Rio de Janeiro – RJ: Guanabara Koogan, 2012.

GELATTI, L. C.; BECKER, A. P.; BONAMIGO, R. R.; AZEVEDO, P. A. *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. Rio de Janeiro – RJ, v. 84, n. 5, p. 501-506, 2009.

GOLL, A. S.; FARIA, M. G. I. Resistência Bacteriana como Consequência do uso inadequado de antibióticos. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR**, v.5, n.1, p. 69-72, 2013.

GÓMEZ-GÓMEZ, L.; SÁNCHEZ-MUNIZ, F. Revision: Efectos cardiovasculares del ajo (*Allium sativum*). **Archivos latino americanos de nutricion**, Caracas, v. 50, n.3, 2000.

GROSSO E. S. B.; LIMA; A. P. L. Efeito antimicrobiano do alho (*allium sativum*) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de pacientes de um Hospital escola do sul de Minas. **13º Congresso Nacional de Iniciação Científica. Anais do Conic- Semesp**. Faculdade Anhanguera de Campinas - Unidade 3. v.1, 2013.

GULL, I.; SAEED, M.; SHAUKAT, H.; ASLAM, S.; SAMRA, Z. K.; ATHA, A. M. Inhibitory effect of *Allium sativum* and *Zingiber officinale* extracts on clinically important drug resistant pathogenic bacteria. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v.11, n.18, p. 1-6, 2012.

GUPTA, S.; KAPUR, S.; PADMAVATHI DV; VERMA, V. Garlic: An Effective Functional Food to Combat the Growing Antimicrobial Resistance. **Pertanika Journal Tropical Agricultural Science**, v. 38, n. 2, p. 271 – 278, 2015.

INDU, M. N.; HATHA, A. A. M.; ABIROSH, C.; HARSHA, V.; VIVEKA, M.G.. Atividade antimicrobiana de algumas das especiarias sul - indianas contra serotipos de *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listerismonocytogenes* e *aeromona shydrophyla* **Brazilian Journal of Microbiology**. v.37, p.153-158, 2006.

INTERNATIONAL POTASH INSTITUTE (IPI). Nutrição e saúde. A importância do potássio, 2013.

ISIDÓRIO N. C. M. Um Processo Verde Para A Aula Experimental De Análise Orgânica Funcional, Utilizando Extrato Aquoso Do Alho. **Trabalho de Iniciação Científica - Química Bacharelado / Unigranrio**, 2014.

KADOSAKI, L. L.; SOUSA, S. F.; BORGES, J. C. M. Análise do uso e da resistência bacteriana aos antimicrobianos em nível hospitalar. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 93, n. 2, p. 128-135, 2012.

KARUPPIAH, P.; RAJARAM, S. Antibacterial effect of *Allium sativum* cloves and *Zingiber officinale* rhizomes against multiple-drug resistant clinical pathogens. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 8, p. 597-601, 2012.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia básica e clínica**. 9 ed. Rio de Janeiro – RJ: Guanabara Koogan, 2005.

KOBAYASHI, C. C. B. A.; SADOYAMA, G.; VIEIRA, J. D.G. Determinação da resistência antimicrobiana associada em isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* em um hospital público de Goiânia – GO. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.42, n. 4, p. 404-410, 2009.

KOCH, C. R.; RIBEIRO, J. C.; SCHNOR, O. H.; ZIMMERMANN, B. S.; MULLER, F. M.; D'AGOSTIN, J.; MACHADO, V.; ZHANG, L. Resistência antimicrobiana dos uropatógenos em pacientes ambulatoriais, 2000-2004. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 3, p. 277-281, 2008.

LEONÊZ, A. C.; **Alho: alimento e saúde**. Monografia (especialista em gastronomia e saúde). Universidade de Brasília. Brasília – DF, 2008.

LIMA, C. M. B.L. **Investigação da atividade antiparasitária do *allium sativum* L. *in vitro* e *in vivo***. Tese (Doutor em produtos naturais e sintéticos bioativos – Farmacologia). Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa – PB, 2011.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas**. ed.2. Nova Odessa – SP: Instituto PLantarum, 2008.

MALVEZZI, C. K. **Atividade antimicrobiana de produtos naturais para obtenção de novos biofármacos: estudos dos extratos brutos e suas associações**. Tese (Doutor em ciências em biotecnologia industrial na área de concentração: conversão de biomassa). Universidade de São Paulo. Lorena – SP, 2010.

MARCHIORI, V. F. (a). **Alho - descubra como o alho pode favorecer muito a sua saúde**. São Paulo – SP: Scortecci, 2005.

MARCHIORI, V. F. (b). **Propriedades Funcionais do Alho (*Allium sativum* L.)**, 2005.
MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CATELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas Mediciniais**. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa -MG, 1995.

MELO, V.V.; DUARTE, I. P.; SOARES, A.Q. **Guia de antimicrobianos**. Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (HC-UFG). 1ed. Goiânia – GO, 2012.

MENDES, P. A. P. **Estudo do teor de alicina em alho**. Dissertação (Mestre em engenharia química). Instituto Politécnico de Bragança. Bragança, 2008.

MIRANDA, G. S.; SANTANA, G. S.; MACHADO, B. B.; COELHO, F. P.; CARVALHO, C. A. Atividade antibacteriana *in vitro* de quatro espécies vegetais em diferentes graduações alcoólicas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu-SP, v.15, n.1, p. 104-111, 2013.

MIRON, T.; SHIN, I.; FEIGENBLAT, G.; WEINER, L.; MIRELMAN, D.; WILCHEK, M.; RABINKOV, A. A spectrophotometric assay for allicin, alliin, and alliinase (alliin lyase) with a chromogenic thiol: reaction of 4-mercaptopyridine with thiosulfinates. **Analytical Biochemistry**, v. 307, p. 76-83, 2002.

MOGHADOM, F. F.; NAVIDIFAR, T.; AMIM, M. Antibacterial Activity of Garlic (*Allium sativum* L.) on Multi-Drug Resistant *Helicobacter pylori* Isolated From Gastric Biopsies. **International Journal of Enteric Pathogens**, v. 2, n. 2, 2014.

MOLAND, E S.; HANSON, N. D.; HERRERA, V. L.; BLACK, J. A.; LOCHART, T. J.; HOSSAIN, A. ; JOHNSON, R. V. G.; THOMSON, K. S.. Plasmid-mediated, carbapenem-hydrolysing beta-lactamase, KPC - 2 , in *Klebsiella pneumoniae* isolates. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 51, n. 3, p. 711-714, 2003.

MUNDO HORTA. Imagem *Allium sativum*. Disponível em: <blog. Mundo horta. Com.br.> Acesso em: ago.,2015.

NEVES, P. R.; MAMIZUKA, E. M.; LEVY, C. E.; LINCOPAN, N. *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente: um problema endêmico no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 4, p. 409-420, 2011.

Organização Mundial da Saúde – OMS. **Antimicrobial Resistance – Global Report on Surveillance**, 2014. Disponível em: <<http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>> Acesso em: set., 2015.

PASSOS, T.C., NINAHUAMAN, M.F.M.L., CAROCI, A.S.; COSTA, L.S. Avaliação da atividade antimicrobiana do alho (*Allium sativum* Liliaceae) e de seu extrato aquoso. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 679-684, 2014.

PAREKH, J.; CHANDA, S.V. In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants. **Turkish Journal of Biology**, v.31, p.53-58, 2007.

PERES, D.; NEVES, I.; VIEIRA, F., DEVESA I. Strategy to Control Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*: The 5 Year Experience of a Hospital. **Acta Médica Portuguesa**, v. 27, n.1, p. 67-72, 2014.

PINTO, U. M; CARDOSO, R. R.; VANETTI, M. C. D. Detecção de Listeria, Salmonella e Klebsiella em serviço de alimentação hospitalar. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 319-326, 2004.

PRATI, I. P. Relato De Caso – O Alho Como Alimento Funcional. **Revista Pesquisa e Tecnologia**, vol. 9, n. 1, 2012.

REVISTA ADITIVOS E INGREDIENTES. *Allium sativum* o condimento universal. Editora Insumos, n.67, São Paulo - SP, mar., 2010.

SAMPAIO, C. P. S.; DIAS, I. M.; FARIA, F. M.; OLIVEIRA, M. V. M. Principais bactérias causadoras de infecção hospitalar. **EFDeportes.com, Revista Digital.** v.18, n. 182, 2013. Disponível em< <http://www.efdeportes.com/>>. Acesso em nov, 2015.

SANTIAGO, D. M.; FELÍCIO, V. P. T.; SOARES, S. Avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* do *Allium sativum* L. **Revista Mineira de Ciências da Saúde.** Patos de Minas- MG: UNIPAM, v.3, p. 18-34, 2011.

SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; FREITAS C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES C. R.; CASTRO, H. C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia Medica Laboratorial**; v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.

SANTOS, N. Q. A Resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto Contexto Enfermagem**, v.13, n.esp, p. 64-70, 2003.

SCHULZ, V.; HANSEL, R.; TYLER, V. E. **Fitoterapia racional - um guia de fitoterapia para as ciências da saúde.** Barueri-SP: Manole, 2002.

SILVA, E. Y. Y. **Propriedades funcionais *in vitro* e *in vivo* de alhos frescos e processados.** Brasília – DF, 2009. Tese (Doutor em ciências da saúde). Universidade de Brasília.

SILVA, E. Y. Y.; S. MORETTI, C. L.; MATTOS, L. M. Compostos funcionais presentes em bulbilhos de alhos armazenados sob refrigeração provenientes de cultivos no Brasil e na China. **Revista Ciência Rural**, v. 40, n. 12, p. 2580-2587, Santa Maria – RS, 2010.

SILVA, P. **Farmacologia**. 8 ed. Rio de Janeiro – RJ: Guanabara Koogan, 2013.

SIVAM, P. G. Protection against *Helicobacter pylori* and Other Bacterial Infections by Garlic. **The journal of nutrition**, v.131, p.1106-1108, 2001.

SUFFREDINI, I. B.; VARELLA, A. D.; YOUNES, R. N. Concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima de três extratos vegetais antibacterianos selecionados da floresta amazônica e da mata atlântica brasileira. **Revista do Instituto da Ciência da Saúde**, v. 25, n. 2, p. 127-129, São Paulo – SP, 2007.

Tabela Brasileira de Composição dos alimentos (TACO). ed. 4. Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP, 2011.

TSAI, C.; CHEN, H.; SHEEN, L.; LII, C. Garlic: Health benefits and actions. **Biomedicine**, v. 2, p. 17-29, 2012.

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). **Antimicrobianos**. Departamento de Microbiologia. Instituto de Ciências Biológicas., 2013.

VENANCIO; P. C. Composição química e atividade antimicrobiana de extratos à base de alho (*Alliumativum* e *Alliumtuberosum*) sobre a infecção estafilocócica. Tese (doutorado em Odontologia, área de farmacologia, anestologia e terapêutica). **Jornal da Unicamp** - Universidade Estadual de Campinas, 2010.

VENTUROSO, L.R. BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; PONTIM, B; C; A.; CONUS, L. A. Influência de diferentes metodologias de esterilização sobre a atividade antifúngica de extratos aquosos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.12, n.4, p.499-505, 2010.

WILLIAMS, D. M.; PANT, C. M. Process for the production of allicin. **Neem Biothech LTD: United States patent**, 2007.