

Avaliação da atividade antimicrobiana de taninos isolados da jurema vermelha (*Mimosa arenosa* (Willd Poir) sobre *Staphylococcus aureus* de origem bovina

Severino Silvano dos Santos Higino¹, Andréia Vieira Pereira², Tatiane Kelly Barbosa de Azevêdo³, Gregório Mateus Santana⁴, Andrea Fernanda Ramos de Paula⁷, Luiz Fernando Annunziata Trevisan⁵, Sérgio Santos Azevedo⁶, Maria do Socorro Vieira Pereira⁷

¹Aluno (a) do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária de Ruminantes e Equídeos, pela UFCG. Av. Universitária, s/n, Bairro Santa Cecília, CEP: 58708-110, Patos-PB. E-mail: higinosss@hotmail.com

²Aluno (a) do Programa de Pós-graduação em Patologia experimental, Universidade Estadual de Londrina-UEL, Rodovia Celso Garcia 445, Km 380, CEP 86057-970, Londrina, PR. E-mail: andreiavet@hotmail.com

³Aluno (a) do Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais UFRPE, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos- CEP: 52171-900, Recife, PE. E-mail: tatianekellyengenheira@hotmail.com

⁴Aluno (a) do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Florestais UFRRJ, Rodovia BR 465, CEP: 23897-000, Seropédica, RJ. E-mail: gregorioengflorestal@gmail.com

⁵Aluno (a), Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, UFCG, Patos, PB, Av. Universitária, s/n, Bairro Santa Cecília, CEP: 58708-110, Patos-PB. E-mail: luiztre@msn.com

⁶Prof. (a) Dr. (a), Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, UFCG, Patos, PB, Av. Universitária, s/n, Bairro Santa Cecília, CEP: 58708-110, Patos-PB. E-mail: sergio@vps.fmvz.usp.br

⁷Prof. (a) Dr. (a), Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, UFPB. Av. Cidade Universitária - João Pessoa - PB, CEP - 58059-900. E-mail: vieirapereira@uol.com.br

Resumo

O *Staphylococcus aureus* é um importante patógeno em Medicina Veterinária, sendo um dos maiores causadores de infecções em bovinos. Nos últimos anos o uso indiscriminado de antimicrobianos levou ao aparecimento de cepas resistentes. O uso das plantas na medicina popular faz estas serem valorizadas como produtos naturais importantes para a manutenção da saúde. Devido a suas propriedades antimicrobianas, taninos de diversas espécies vegetais estão sendo testados como possíveis alternativas a antibioticoterapia tradicional. Para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) os taninos foram dissolvidos de forma seriada em água destilada em concentrações variando entre 500 µg/mL e 0.976 µg/mL. Os ensaios foram realizados em triplicata. Os taninos inibiram o crescimento de *Staphylococcus aureus* formando halos que variaram de 10 a 20 mm sendo a CIM de 15,6 µg/mL. Desta forma, foi determinada a atividade antimicrobiana *in vitro* das substâncias tânicas isoladas da casca da Jurema Vermelha (*Mimosa arenosa* (Willd.) Poir.) sobre linhagens de *Staphylococcus aureus* de origem bovina.

Palavras-chave: Bovinos, Taninos, *Mimosa arenosa*, *Staphylococcus aureus*.

Abstract

Evaluation of antimicrobial activity of isolated tannins of red jurema (*Mimosa sandy* (Willd Poir) on *Staphylococcus aureus* of bovine origin. The *Staphylococcus aureus* is an important pathogen in Veterinary Medicine, being one of the largest causes of infections in bovine. In the last years, the indiscriminate use of antimicrobial took to the emergence of resistant stumps. The use of the plants in the popular medicine does these they be valued as important natural products for the maintenance of the health. Due to their properties antimicrobial, tannins of several vegetable species are being tested as possible alternatives the traditional antibiotic. For determination of MIC, tannin was serially dissolved in distilled water at concentrations ranging from 500 µg/mL to 0.976 µg/mL. Assays were performed in triplicate. Tannin inhibit *Staphylococcus aureus* growth forming halos ranging from 10 to 20 mm with a MIC of 15.6 µg/mL. Therefore, it was certain the activity *Mimosa arenosa sandy* (Willd.) Poir.) On lineages of *Staphylococcus aureus* of bovine origin.

Keywords: Bovines, Tannins, *Mimosa arenosa*, *Staphylococcus aureus*.

Introdução

O *Staphylococcus aureus* destaca-se como um importante patógeno em Medicina Veterinária, sendo um dos maiores causadores de infecções em bovinos bem como em outras espécies animais (Botaro et al. 2015; Elhaig & Selim 2015; Ikawaty et al. 2009). Nos últimos anos o uso indiscriminado de antimicrobianos no combate as infecções levou ao aparecimento de cepas multiresistentes a estes compostos (Botaro et al. 2015; Medeiros 1997), que em decorrência disto, tem-se estimulando uma busca de métodos alternativos para a terapia tradicional com antibióticos.

A *Mimosa arenosa* (Willd.) Poir., pertence a família Fabaceae, é um arbusto espinhoso nativo da América do Sul que geralmente pode alcançar de 3 a 5 m de altura, e que possui importância significativa como forragem para pequenos ruminantes no nordeste do Brasil e suas cascas apresentam taninos (Lima et al. 2014; Parra 1984).

Os taninos são substâncias naturais (Haslam 1966) que podem ser encontrados em várias partes do vegetal, como madeira, casca, frutos e sementes. São constituídos por polifenóis (Pizzi 1993). Devido a suas propriedades antimicrobianas, taninos de diversas espécies vegetais são testados como possíveis alternativas a antibioticoterapia tradicional (Albuquerque 2007).

Desta forma o presente estudo teve como objetivo determinar a atividade antimicrobiana *in vitro* das substâncias tânicas isoladas da casca da Jurema Vermelha (*Mimosa arenosa*) sobre linhagens de *Staphylococcus aureus* de origem bovina.

Material e Métodos

Espécie estudada

As cascas da Jurema Vermelha foram coletadas no Núcleo de Pesquisas do Semi-Árido (NUPEÁRIDO), município de Patos, PB, propriedade da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Com o intuito de representar a variabilidade genética existente entre e dentre as plantas, de cada espécie amostrada, foram selecionados cinco exemplares, sendo retiradas amostras de cascas em três posições, no tronco (base, meio e topo), nos galhos e nos ramos (diâmetro de até

5,0 cm). Desse modo, a árvore foi integralmente representada.

Preparo das cascas e extração das substâncias tânicas das cascas

As cascas ao serem retiradas, foram condicionadas em sacos plásticos, para que não houvesse perda de umidade e transportadas para o Laboratório de Tecnologia de Produtos Florestais (LTPF) da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural (UFCG/CSTR), Patos, PB. No laboratório, foram tomadas duas amostras de cascas, as quais foram cortadas em fragmentos menores, homogeneizadas, pesadas e secas em estufa a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas, para a determinação do teor de umidade (base seca) das cascas obtidas. Depois dessa operação, as cascas foram secas ao ar e moídas em uma forrageira, para obter um material de menor granulometria. O material moído foi classificado e utilizou-se o que passou por uma peneira de malha de 2,00 x 2,00 cm. Após essa operação, retiraram-se quatro amostras representativas de cascas. Duas destas foram secas a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas, a fim de avaliar o teor de umidade (base seca) das cascas secas ao ar e as outras foram moídas em moinho do tipo Willey, para obtenção de um material de menor granulometria e mais homogêneo e destinadas à quantificação das substâncias tânicas presentes na espécie.

Extração para quantificação e isolamento das substâncias tânicas

Para a quantificação das substâncias tânicas, o material foi classificado e utilizou-se a porção que passou pela peneira de 32 “mesh” e ficou retida na de 60 “mesh”. Em seguida, o material foi homogeneizado, e retiraram-se duas amostras, que foram pesadas e conduzidas à estufa (sob as mesmas condições já descritas) para a determinação do teor de umidade do material e para permitir os cálculos do teor de taninos presentes.

Para as extrações, 25g de casca absolutamente seca foram colocadas em um balão de 1000 mL e adicionaram-se, a seguir, 500 mL de água destilada (relação 20:1; v/p). Ao balão foi conectado um condensador de refluxo, e o material foi mantido na temperatura de ebulição da água por duas horas, em uma manta aquecedora.

Após a fervura, o material foi coado em uma peneira de 150 “mesh”, armazenado em garrafas de plástico e conservado em geladeira, a fim de evitar o surgimento de fungos nos extratos. As cascas foram submetidas novamente ao processo de extração, com o intuito de retirar em ao máximo os taninos presentes em cada espécie. Assim a relação final casca: água foi de 1:40.

Os extratos obtidos das extrações foram transferidos para um balão volumétrico de 1.000 mL, tendo o volume completado pela adição de água destilada. Após este procedimento, o material foi coado numa flanela e, posteriormente filtrado em cadinho de vidro sinterizado de porosidade 2. Do filtrado obtido, retiram-se três alíquotas de 50 mL. Uma delas foi colocada em um copo becker de 100 mL, e levada à estufa a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 horas, para a determinação do teor de sólidos totais (TST) presente no extrato. Para as determinações do TST foi empregada a equação a seguir:

$$TST (\%) = \frac{M_i - M_f}{M_i} \cdot 100$$

Em que:

TST = Teor de sólidos totais (%);

M1 = Massa inicial (g); e

M2 = Massa final (g).

As demais alíquotas foram utilizadas para a determinação do teor de taninos condensados (TTC) de cada extrato. Para tanto, foi empregado o método de Stiasny (Guangcheng et al.,1991), com algumas modificações. Assim, para a determinação do TTC, em uma amostra de 100 mL do extrato total foram adicionados 4 mL de formaldeído (37%) e 1 mL de HCl concentrado. Assim, para a determinação do TTC, em uma amostra de 100 mL do extrato total adicionaram 4 mL de formaldeído (37%) e 1 mL de HCl concentrado. O material foi aquecido, sob refluxo durante 30 minutos. Nessa condição, os taninos formaram complexos insolúveis, que foram separados por filtragem simples ao empregar filtro de papel. Após a filtragem, o material foi transferido para um copo Becker de 250 mL e seco a $103 \pm 2^\circ\text{C}$, por 24 horas. Após a secagem, calculou-se o Índice de Stiasny, conforme equação a seguir:

$$TTC (\%) = \frac{TST \cdot I}{100}$$

Em que:

I = Índice de Stiasny (%);

M1 = Massa de sólidos em 100 mL de extrato;

M2 = Massa do precipitado taninos – formaldeído.

Após a obtenção do Índice de Stiasny foi calculado o teor de taninos condensados (TTC), conforme a Equação a seguir:

$$I (\%) = \left(\frac{M_2}{M_1} \right) \cdot 100$$

Em que:

TTC = Teor de taninos condensados (%);

TST = Teor de sólidos totais (Equação 1);

I = Índice de Stiasny (Equação 2).

Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

Extrações das substâncias tânicas para avaliação da atividade antimicrobiana

A extração dos taninos a serem utilizados como atividade antimicrobiana foi extraído em água, à temperatura de $70 \pm 5^\circ\text{C}$, durante duas horas. Nas extrações, para cada 2,00 kg de cascas foram adicionados 10 litros de água (relação 5:1). Cada amostra foi submetida à fervura, em um digestor rotativo, com capacidade de 20 litros.

Essa operação foi executada no LTPF (UFMG/CSTR). Cada amostra de casca foi submetida a duas extrações. Assim, a relação final foi de 1:10. Após cada extração, o material foi passado em uma peneira com tecido de “silk screen” e em um tecido de flanela, para a retenção de partículas finas.

O extrato obtido foi homogeneizado e derramado em bandejas de alumínio de 5 x 40 x 60 cm, e posto em uma estufa de ventilação forçada mantida a $70 \pm 3^\circ\text{C}$, até a completa evaporação da umidade. O material seco obtido foi moído em um multiprocessador de uso doméstico e peneirado em peneira de 60 mesh.

Aquisição das amostras de Staphylococcus aureus

Os isolados foram coletados de bovinos lactantes, infectados naturalmente, a coleta das amostras foi realizada após lavagem da teta com água e sabão, secagem com papel toalha e desinfecção do óstio do teto, utilizando-se álcool etílico a 70°GL . Coletou-se aproximadamente 5 ml de leite por quarto mamário, de maneira asséptica, com tubo

inclinado na posição horizontal (Bouchot et al., 1985). Estas amostras foram armazenadas em tubos rosqueados estéreis, identificados e enviados sob refrigeração em caixas de material isotérmico, para a realização do exame microbiológico, e identificação do *Staphylococcus aureus*, além das amostras clínicas, foi também utilizado amostras padrão de ATCC 29213, no Laboratório de Genética e Microbiologia da Universidade Federal da Paraíba- CCEN, onde foram processadas.

Determinação da Atividade Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana em placas foi determinada pelo método de difusão em meio sólido para determinação da Concentração Inibitória Mínima (MIC). A MIC é considerada a menor concentração das substâncias que inibi visivelmente o crescimento bacteriano. Foram feitos orifícios de 6 mm de diâmetro e preenchidos com 50µL do pó tânico diluído em água destilada, para as concentrações 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 e 1:32 para a determinação da atividade antimicrobiana do tanino. A concentração inicial de tanino para diluição seriada foi de 50 µg/mL. Estas placas foram mantidas na estufa a 37° C por 24 horas,

em que foi considerada como CIM a menor concentração da droga que inibiu completamente o crescimento bacteriano (CLSI, 2010). O controle negativo consistiu de uma sequência de diluições seriadas de gentamicina na concentração de 40 µg/mL. A leitura das placas levou em consideração a presença ou ausência de halos. Estes foram medidos em milímetros (mm) em relação ao seu diâmetro e a concentração inibitória mínima (MIC), estimada de acordo com a metodologia do NCCLS (2003). A análise estatística foi do tipo descritiva, calculando-se as frequências absolutas e relativas (SAMPAIO, 1998).

Resultados e Discussão

Como resultados pode-se observar que as substâncias tânicas contidas na casca da Jurema Vermelha apresentaram atividade antimicrobiana sobre todas as cepas de *S. aureus* isolados de bovinos conforme a tabela 1. Os dados revelam que a *Mimosa arenosa* foi eficaz em diversas diluições apresentando halos de inibição que variaram de 10 a 20 mm.

Tabela 1. Concentração Inibitória Mínima da solução tânica da jurema vermelha (*Mimosa arenosa*) em amostras de *Staphylococcus aureus* de origem bovina.

Diluições	Solução tânica (Jurema Vermelha) / Diâmetro dos halos de inibição (mm)					
	01:01	01:02	01:04	01:08	01:16	01:32
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	19	16	15	13	13	11
<i>S. aureus</i> 233 FN	20	18	16	14	12	10
<i>S. aureus</i> 102 U	20	17	15	14	12	11
<i>S. aureus</i> 322 FN	20	16	15	13	12	10

Dados que se assemelham aos de Pereira (2009), onde seu experimento com o extrato da Jurema preta (*Mimosa tenuiflora*) apresentou atividade biológica efetiva, nas diluições 1:1; 1:2; 1:4; 1:8; 1:16 e 1:32, sendo considerado a CIM = 1,56 µg/mL.

Em decorrência da escassez de literaturas sobre a atividade antimicrobiana da jurema vermelha viu-se a necessidade da comparação com trabalhos envolvendo a *Mimosa tenuiflora* planta pertencente à mesma família da *Mimosa arenosa*.

Esses resultados corroboram com os obtidos por Gonçalves et al. (2006) que mostraram que a jurema preta apresentou excelente atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* spp coagulase negativa e outros microorganismos

formando halos de inibição de 23 e 12mm respectivamente. Em estudos utilizando extrato de *M. tenuiflora*, De Souza et al. (2002) também já haviam encontrado efeito antimicrobiano em extratos desta planta frente à bactérias Gram positivas e Gram negativas, inibindo *S. aureus* à concentração de 10⁷ UFC/mL.

Vários autores testaram os taninos presentes nos extratos de plantas medicinais, e observaram que estes possuem ação sobre vários microrganismos, inibindo seu crescimento, o que faz dos vegetais uma excelente fonte de novos compostos biologicamente ativos (Bezerra et al. 2011; Ferreira et al. 2012; Rodrigues et al. 2014).

A atividade antimicrobiana do extrato de jurema vermelha pode estar associada a

presença de flavonóides e taninos, como descrito por Meckes-Lozoya et al. (1990), que verificaram a presença destes compostos em trabalho realizado com a *Mimosa tenuiflora*. Heinrich et al. (1992) também verificou a sua atividade antimicrobiana sobre cepas de *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus*, *Proteus mirabilis* e *Shigella sonnei*. Nossa pesquisa, corrobora com os dados de Siqueira et al (2012) os quais afirmam que os taninos além de apresentar atividade anti-inflamatória, apresenta excelente atividade antimicrobiana sobre diversos microorganismos, podendo ser, desta forma, os responsáveis pela preferência por plantas ricas em taninos pela comunidade (Jandú et al. 2013).

Conclusão

O estudo da *Mimosa arenosa* (Willd.) Poir. sobre amostras de *Staphylococcus aureus* oriundo de bovinos, demonstrou que a mesma possui ação antimicrobiana, confirmando, portanto seu potencial para uma possível utilização como indicações terapêuticas na Medicina Veterinária.

Referências

- ALBUQUERQUE, U.P.; MEDEIROS, P.M.; ALMEIDA, A.L.S.; MONTEIRO, J.M.; LINS NETO, E.M.F.; MELO, J.G.; SANTOS, J.P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach, **Journal of Ethnopharmacology** v.114, p.325–354, 2007.
- BEZERRA D.A.C., RODRIGUES F. F. G; COSTA J.G.M.; PEREIRA A.V.; SOUSA E.O.; RODRIGUES O.G. Abordagem fitoquímica, composição bromatológica e atividade antibacteriana de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret e *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 33, p. 99-106, 2011.
- BOTARO, B.G.; CORTINHAS, C.S.; DIBBERN, A.G.; PRADA, L.F.; BENITES, N.R.; SANTOS, M.V. *Staphylococcus aureus* intramammary infection affects milk yield and SCC of dairy cows. **Trop Anim Health Prod**, 47:61–66, 2015.
- BOUCHOT, M.C.; CATEL, J.; CHIROL, C.; GANIERE, J.P.; MENEZES, L. E.M., Diagnostic bactériologique des infections mammaires des bovins. **Recueil de Médecine Veterinária**, p. 567-577, 1985.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). 2010. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, twentieth information supplement, document M100S20**. Wayne, PA, USA: CLS
- DE SOUZA, R. S. O. 2002. **Jurema- Preta (*Mimosa tenuiflora* [Willd] Poiret): Enteógeno, Remédio ou Placebo? Uma Abordagem à Luz da Etnofarmacologia**, Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, Brasil.
- ELHAIG, M.M.; SELIM, A. Molecular and bacteriological investigation of subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* in domestic bovids from Ismailia, Egypt. **Trop Anim Health Prod**, 47:271–276, 2015.
- FERREIRA P.R.B.; MENDES C.S.O.; RODRIGUES C.G.; ROCHA J.C.M.; ROYO V.A.; VALÉRIO H.M.; OLIVEIRA D.A. Antibacterial activity tannin-rich fraction from leaves of *Anacardium humile*. **Cienc. Rural**, v.42, p.1862-1863, 2012.
- GUANGCHENG, Z.; YUNLU, L.; YAZAKI, Y. Extractive yields, Stiasny values and polyflavonoid content in barks from six acacia species in Australia. **Australian Forestry**, v. 54, p. 154-156, 1991.
- GONÇALVES, A.L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Efeitos antimicrobianos de algumas árvores medicinais nativas nas conjuntivites infecciosas. **O Biológico**. v.68, 2006.
- HASLAM, E. **Chemistry of vegetable tannins**. London: Academic, 170 p., 1966.
- HEINRICH, M.M.; KUHN, M.; WRIGT, C.W.; RIMPLER, H.; PHILLIPSON, J.D.; SCHANDELMAIER, A.; WARHURST, D.C. Parasitological and microbiological evaluation of mixe indian medical plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.36, p.81-85, 1992.
- IKAWATY R., BROUWER E.C., JANSEN M.D., VAN DUIJKEREN D. E., MEVIUS D., VERHOEF, J. FLUIT, A.C. Characterization of Dutch *Staphylococcus*

- aureus from bovine mastitis using a Multiple Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis. **Veterinary Microbiology**, v.136 p.277–284, 2009.
- JANDÚ, J. J. B.; SILVA, L. C. N. DA; PEREIRA, A. D. P. C.; Souza, R. M., SILVA JÚNIOR, C. A., FIGUEIREDO, R. C. B. Q; Silva, M. V. *Myracrodruon urundeuva* bark: an antimicrobial, antioxidant and non-cytotoxic agent. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, n. 8, p. 413–418, 2013.
- LIMA, C.R.; PAES, J.B.; LIMA, V.L.A.; DELGADO, M.F.F.; LIMA, R.A. Potencialidade dos extratos tânicos de três espécies florestais no curtimento de peles caprinas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.18, n.11, p.1192–1197, 2014
- MEDEIROS, A.A. Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics. **Clin Infect Dis.**, Suppl. 1, p. S19- S45, 1997.
- MECKES LOZOYA, M.; LOZOYA, X.; MARLES, R.J.; SOUCY BREAU, C.; SEN, A.; ARNASON, J.T. N, N-Dimethyltryptamine Alkaloid in *Mimosa tenuiflora* Bark (Tepescohuite). **Arch. de Invest. Med.**, n.2, 21:175-177, 1990.
- NCCLS. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eighth Edition.** NCCLS document USA, M2-A8, v.23, n.1, 2003.
- PARRA, G.P. Estudio de la morfología externa de plantulas de *Calliandra gracilis*, *Mimosa albida*, *Mimosa arenosa*, *Mimosa camporum* y *Mimosa tenuiflora*. **Revista de la Facultad de Agronomía** (Maracay) 8(1-4): 311-350, 1984.
- PEREIRA, A.V.; LÔBO, K.M.S.; BEZERRA, D.A.C.; RODRIGUES, O.G.; ATHAYDE, A.C.R.; MOTA, R.A.; LIMA, E.Q.; DE MEDEIROS, E.S. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de *Jurema Preta* e *Neem* sobre amostras de *Staphylococcus* sp. isoladas de mastite em búfalas. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.76, n.3, p.341-346, jul./set., 2009.
- PIZZI, A. **Tanin-based adhesives.** In: **Wood adhesives: chemistry and technology.** New York: M. Dekker, p.177-246, 1993.
- RODRIGUES, C.G.; FERREIRA P.R.B.; OLIVEIRA C.S.M.; JÚNIOR R.R.; VALÉRIO H.M.; BRAMDI I.V.; OLIVEIRA D.A. Antibacterial activity of tanins from *Psidium guineense* Sw. (Myrtaceae). **Journal of Medicinal Plant Research**, v.8, p.1-5, 2014.
- SILVA, M.A.R. Influência do extrato da romã (*Punica granatum* Linn.) sobre plasmídeos nos processos de cura e transmissibilidade genética de *Staphylococcus aureus* de origem bovina. **49º Congresso Brasileiro de Genética**, Gramado, RS, 2003.
- SIQUEIRA, C. F. D. Q.; CABRAL, D. L. DE V.; PEIXOTO SOBRINHO, T. J. S.; et al. Levels of Tannins and Flavonoids in Medicinal Plants: Evaluating Bioprospecting Strategies. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, p. 7, 2012.