

Abanico Veterinario. Janeiro-Dezembro 2020; 10(1):1-11. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2020.1>
Artigo Original. Recebido: 25/02/2019. Aceito: 16/09/2019. Publicado: 06/01/2020.

Efeito antibacteriano do extrato metanólico de *Salix babylonica* em bactérias de importância para a saúde pública

Antibacterial effect of the methanol extract of *Salix babylonica* against important bacteria in public Health

González-Alamilla Eddy¹ , Rivas-Jacobo Marco¹ , Sosa-Gutiérrez Carolina² ,
Delgadillo-Ruiz Lucía³ , Valladares-Carranza Benjamín⁴ , Rosenfeld-Miranda
Carla⁵ , Zaragoza-Bastida Adrián^{2*} , Rivero-Pérez Nallely^{2*} 

¹Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Agronomía y Veterinaria. ²Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. ³Unidad Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Zacatecas. Zacatecas, México. ⁴Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, ⁵Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Isla Teja s/n, Casilla 567, Valdivia, Chile
*Autor responsable y de correspondencia: Adrián Zaragoza-Bastida, Nallely Rivero-Perez. Rancho universitario Av. Universidad km. 1, Ex Hacienda de Aquetzalpa, Apartado Postal No. 32, Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México. eddynglez24@gmail.com, marco.rivas@uaslp.mx, carolina_sosa@uaeh.edu.mx, delgadillolucia@gmail.com, crosenfe@uach.cl, adrian_zaragoza@uaeh.edu.mx, nallely_rivero@uaeh.edu.mx.

RESUMEN

O uso excessivo de antimicrobianos tem gerado resistência dos microrganismos a estes, têm sido buscadas alternativas eficazes no tratamento de doenças causadas por microrganismos resistentes ou multirresistentes a antibióticos, dentre essas alternativas estão as plantas, que devido ao seu conteúdo composto de efeitos colaterais têm atividade antibacteriana. O objetivo do presente estudo foi caracterizar e determinar a atividade antibacteriana do extrato metanólico de *Salix babylonica* (SB) em bactérias de importância para a saúde pública. Para obtenção do extrato, foi utilizada a técnica de maceração, caracterização química qualitativa e quantitativa por cromatografia gasosa. Para determinar a atividade antibacteriana, foram determinadas a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) e a caracterização do extrato permitiu a identificação de compostos fenólicos, cumarinas, lactonas, flavonóis, quinonas, saponinas, triterpenos e compostos esteróides, além de compostos fenólicos. Timol (0,5319 mg/ml) e Carvacrol (0,4158 mg/ml). Com relação à atividade antibacteriana, a melhor atividade foi apresentada contra o *Bacillus subtilis* (CIM: 12,5 mg/mL e CBM: 25 mg/mL), *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* (CIM: 25 mg/mL e CBM: 50 mg/mL). Conclui-se que o extrato metanólico de SB pode ser uma alternativa para o tratamento de doenças causadas por bactérias resistentes a antibióticos ou multiresistentes.

Palavras-chave: *Salix babylonica*, caracterização, efeito antibacteriano.

ABSTRACT

The excessive use of antibiotics, has generated resistance of microorganisms to these, have been searched effectives alternatives for treating diseases caused by resistant or multiresistant microorganism, and within of these alternatives are plants, which by its content of secondary compounds have antibacterial activity. The aim on the present experiment was characterize and determine the antibacterial activity of methanolic extract of *Salix babylonica* (SB) against important bacteria in public health. To obtain extract, the maceration technique was used, qualitative and quantitative (gas chromatography) chemical characterization was carried. For antibacterial activity, the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) was determined, the characterization of the extract allowed the identification of

phenolic compounds, coumarins, lactones, flavonols, quinones, saponins, triterpenes and steroidal compounds, also Thymol (0.5319 mg/mL) and Carvacrol (0.4158 mg/mL). The extract showed the best activity against *Bacillus subtilis* (MIC: 12.5 mg/mL and MBC: 25 mg/mL), *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* (MIC: 25 mg/mL and MBC: 50 mg/mL). It is concluded that the methanolic extract of SB can be an alternative for the treatment of diseases produced by resistant or multiresistant bacteria to antibiotics.

Keywords: *Salix babylonica*, characterization, antibacterial effect.

INTRODUÇÃO

As doenças infecciosas causadas por microorganismos têm sido uma das causas mais importantes de morte na humanidade (Lozano *et al.*, 2012). Agentes bacterianos, incluindo *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* e *Proteus vulgaris*, causaram importantes doenças infecciosas na saúde pública (Khan *et al.*, 2013).

A introdução de agentes antimicrobianos na medicina tem sido uma das intervenções mais importantes para controlar e reduzir a prevalência de doenças infecciosas (Alós, 2015). No entanto, uma ameaça crescente nos últimos anos que diminuiu a eficácia desses medicamentos é a resistência bacteriana aos antibióticos; gerado porque os microrganismos adquiriram a capacidade de impedir que um antimicrobiano atue contra ele. Como resultado, os tratamentos de escolha se tornam ineficazes, as infecções persistem e podem se espalhar para outros indivíduos (WHO, 2017).

Na maioria das populações de diferentes países em desenvolvimento, a humanidade usou plantas para tratar doenças infecciosas comuns, o que poderia ser uma alternativa potencial para produzir novos medicamentos de grande benefício à saúde (Renisheya *et al.*, 2011; Khan *et al.* 2013).

Uma das plantas consideradas importantes para o estudo de suas propriedades fotoquímicas é a *Salix babylonica*, conhecida como salgueiro-chorão. Esta espécie pertence ao gênero *Salix* da família *Salicaceae*, *Salix babylonica* é uma das espécies mais conhecidas em salgueiros, distribuídas em algumas áreas da Ásia, Europa e América; comumente usados como planta ornamental e medicinal (Wahab *et al.*, 2018).

Existem relatos nos quais são evidenciadas as propriedades farmacológicas associadas à avaliação dos extratos de folhas, cascas e caules; obtido de *Salix babylonica*. Entre as propriedades fitoquímicas atribuíveis à *Salix babylonica*, destacam-se: atividade anti-helmíntica, anti-séptica, antiartrítica, adstringente, analgésica, anticâncer, antipirética, antimalárica, antioxidante, antifúngica, anti-helmíntica e antibacteriana. Essas propriedades estão associadas ao seu conteúdo de compostos secundários, como fenólicos totais, flavonóides, terpenos e lignanas (Sulaiman *et al.*, 2013; Wahab *et al.*, 2018).

Com base nas abordagens supracitadas, o objetivo do presente trabalho de pesquisa foi caracterizar e determinar a atividade antibacteriana do extrato metanólico de *Salix babylonica*, em bactérias de importância na saúde pública.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção de extrato

Para a obtenção do extrato, foram coletados aproximadamente 1 kg de material vegetal *Salix babylonica* em diferentes estágios fenológicos, que foram coletados no município de Tulancingo, Hidalgo. A parte aérea coletada de *Salix babylonica* foi seca à sombra à temperatura ambiente, após a secagem foi triturada e a técnica de maceração foi realizada. Macerou-se 250 g do material seco em 1000 ml de metanol durante 48 horas à temperatura ambiente e na ausência de luz. O extrato líquido da maceração foi obtido por filtração com papel de filtro (Whatman® 42) e algodão. O extrato líquido obtido foi concentrado sob pressão reduzida em um evaporador rotativo, a fim de remover os solventes e concentrar os metabólitos secundários, de acordo com a metodologia descrita por [Rivero et al., 2016](#).

Caracterização química do extrato metanólico de *Salix babylonica*

Perfil químico qualitativo: O perfil químico foi realizado de acordo com o procedimento descrito por [Bañuelos-Valenzuela et al., 2018](#), para a determinação de instalações, fenólicos, esteróis, triterpenos, cumarinas, sesquiterpenlactonas, flavonóides, alcalóides, tanídeos, fluorataninos, esteróides e saponinas.

Cromatografia gasosa: A composição química foi determinada por cromatografia gasosa (CG; Agilent Technologies série 6890N fabricada nos EUA), com uma coluna polar DB_WAXetr, a 250 °C e 12,13 psi com um fluxo de He 36,5 ml min⁻¹ após da injeção. As condições para a coluna foram: temperatura inicial de 50 °C de zero a dois minutos, aumentando de 10 em 10 °C até atingir 250 °C, mantendo a temperatura constante por 5 minutos e depois descendo para 50 °C por dois minutos com um fluxo de He de 1,6 ml min⁻¹ a uma pressão de 12,13 psi e uma velocidade média de 25 cm s⁻¹, usando um detector de chama ionizante (FID), a uma temperatura de 210 °C com um fluxo de H₂ de 40 ml min⁻¹ e um fluxo de ar de 450 ml min⁻¹. Os padrões (Sigma-Aldrich) foram utilizados em diferentes concentrações (tabela 1).

Atividade antibacteriana

Para determinar a atividade antibacteriana do extrato de metanol de *Salix babylonica*, foram utilizados os seguintes métodos: Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM), seguindo as especificações do CLSI ([CLSI, 2012](#)).

Tabela 1. Concentrações de padrões utilizados para a determinação química do extrato metanólico de *Salix babylonica* por cromatografia gasosa.

Padrão	Composto mg/mL ⁻¹				
	Timol	Carvacrol	Linalol	Terpineno	Limoneno
1	10.373	8.284	7.744	7.154	8.496
2	5.186	4.142	3.872	3.577	4.248
3	2.593	2.071	1.936	1.789	2.124
4	1.297	1.035	0.968	0.894	1.062
5	0.648	0.518	0.484	0.447	0.531
6	0.324	0.259	0.242	0.224	0.265

O teste de atividade antimicrobiana foi realizado com as cepas ATCC 6538 de *Staphylococcus aureus*, 6633 de *Bacillus subtilis*, 35218 de *Escherichia coli*, 9027 de *Pseudomonas aeruginosa*, 14028 de *Salmonella typhi*, 10708 de *Salmonella cholerasuis* e 19113 de *Listeria monocyto*. Uma colônia de cada bactéria foi inoculada em caldo nutritivo (BD Bioxon), o qual foi incubado sob agitação constante (70 rpm) por 24 horas a 37 °C. Após o tempo de incubação, o inóculo foi ajustado com caldo de nutrientes para 0,5 do padrão de turbidez de Mc Farland, que corresponde a 150×10^6 células/ml.

Para a determinação da CIM, foi utilizado o método de microdiluição em placa, utilizando concentrações de 400, 200, 100, 50, 25, 12,50, 6,25, 3,12 mg/ml, do extrato metanólico de *Salix babylonica*. Cada concentração foi preparada com caldo nutritivo (BD Bioxon). O procedimento foi realizado em triplicata em placas de 96 poços, colocando 100 µl de cada uma das diluições do extrato mais 10 µl da suspensão bacteriana, previamente ajustada para 0,5 McFarland. Depois que a inoculação foi realizada, a placa foi incubada a 37 °C por 24 horas a 70 rpm sob agitação constante, o controle positivo foi Kanamicina (AppliChem 4K10421) nas concentrações de 64, 32, 16, 8,0, 4,0, 2,0, 1,0 e 0,5. µg/ml e o controle negativo foi caldo nutritivo.

Para determinar a CIM, foi utilizado um método colorimétrico, baseado no uso de sais de tetrazólio (Balouiri *et al.*, 2016). Após o tempo de incubação, 20 µl de uma solução a 0,04% (p / v) de p-iodonitrotetrazólio foram adicionados a cada poço; foi incubada por 30 minutos a 37 °C e a leitura foi realizada, determinando como a concentração inibitória mínima, a concentração na qual a solução fica rosada (Kaewpiboon *et al.*, 2012; Mothana *et al.*, 2009).

Para determinar o CBM, após a adição de p-iodonitrotetrazólio, 5 mL de cada poço foram inoculados em ágar Mueller Hinton, depois incubados a 37 °C por 24 horas. Após o tempo de incubação, a leitura foi realizada para determinar a concentração bactericida mínima do extrato, ou seja, a concentração na qual não foi observado crescimento bacteriano na placa.

RESULTADOS

A caracterização qualitativa realizada sobre o extrato metanólico de *Salix babylonica*, indica a presença de insaturações, oxidrilas fenólicas, cumarinas, lactonas, flavonóis, quinonas, saponinas, aromaticidade e polifenóis. Além de positivo para o teste de Lieberman-Buchard, que indica a presença de triterpenos e compostos esteróides. (Tabela 2)

Tabela 2. Testes qualitativos do perfil químico do extrato metanólico de *Salix babylonica*.

Teste	Resultado
<i>Insaturação</i>	+
<i>Oxidrilos fenólicos</i>	+
<i>Cumarinas</i>	+
<i>Lactonas</i>	+
<i>Salkowski</i>	-
<i>Flavonóis</i>	+
<i>Flavonas</i>	-
<i>Chalconas</i>	-
<i>Quinonas</i>	+
<i>Shinoda</i>	-
<i>Sesquiterpenlactonas</i>	-
<i>Agitação</i>	+
<i>Bicarbonato</i>	-
<i>Saponinas</i>	+
<i>Aromaticidade</i>	+
<i>Triterpenos</i>	+
<i>Taninos</i>	-
<i>Florataninos</i>	+
<i>Esteróides</i>	+

Composição química

A análise no cromatógrafo a gás foi de 20 min com um tempo de retenção para terpinen de 6,40 min, limoneno 6,66 min, linalol 11,28 min, timol 18,04 min e carvacrol 18,37 min. Para calcular a concentração das amostras, trabalhamos com cinco padrões com seis concentrações cada (tabela 1).

Uma vez realizadas as curvas de calibração e as equações, foi determinado que o extrato metanólico de *Salix babylonica* contém Timol e Carvacrol em concentrações de 0,5319 mg/ml, 0,4158 mg/ml, respectivamente. Tabela 3

Tabela 3. Composição química do extrato metanólico de *Salix babylonica*

Padrão/ Extracto	Composto mg/mL				
	Terpinen	Limoneno	Linalol	Timol	Carvacrol
1	10.373	8.284	7.744	7.154	8.496
2	5.186	4.142	3.872	3.577	4.248
3	2.593	2.071	1.936	1.789	2.124
4	1.297	1.035	0.968	0.894	1.062
5	0.648	0.518	0.484	0.447	0.531
6	0.324	0.259	0.242	0.224	0.265
<i>Salix babylonica</i>	0	0	0	0.5319	0.4158

Atividade antibacteriana

Concentração inibitória mínima

A concentração inibitória mínima do extrato metanólico de *Sális babylonica* foi de 100 mg/ml para *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella cholerasuis* e *Pseudomonas aeruginosa*; 25 mg/ml para *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*. A menor concentração em que o extrato esteve ativo foi de 12,5 mg/ml, comparado com *Bacillus subtilis* (tabela 4)

Tabela 4. Concentração Inibitória Mínima de extrato de *Salix babylonica* metanolic

Bactérias	Concentrações (mg/mL)							
	400	200	100	50	25	12.5	6.25	3.12
<i>Escherichia coli</i>	-	-	CIM	+	+	+	+	+
<i>Salmonella typhi</i>	-	-	CIM	+	+	+	+	+
<i>Salmonella cholerasuis</i>	-	-	CIM	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	CIM	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	CIM	+	+	+
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	-	CIM	+	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-	-	CIM	+	+

(-) Sem alteração de cor, (+) Alteração de cor

Concentração bactericida mínima

A concentração bactericida mínima do extrato metanólico de *Sális babylonica* foi determinada em 200 mg/ml; para *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella cholerasuis* e *Pseudomonas aeruginosa*, 50 mg/ml; e para *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* e 25 mg/ml para *Bacillus subtilis* (Tabela 5).

Tabela 5. Concentração bactericida mínima do extrato metanólico de *Salix Babylonica*

Bactérias	Concentrações (mg/mL)							
	400	200	100	50	25	12.5	6.25	3.12
<i>Escherichia coli</i>	-	CBM	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonella typhi</i>	-	CBM	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonella cholerasuis</i>	-	CBM	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	CBM	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	CBM	+	+	+	+
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	CBM	+	+	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-	CBM	-	-	-

(-) Sem crescimento, (+) Crescimento

DISCUSSÃO

A presença de insaturações, oxidrilas fenólicas, cumarinas, lactonas, flavonóis, quinonas, fluorataninos, esteróides triterpenos e saponinas no extrato metonólico de *Salix babylonica* foi determinada por meio de testes qualitativos. Em estudos anteriores, foram identificados compostos como tritetracotano, éster 1,2,3-propanotriol, ácido octadecanóico, éster metílico do ácido hexadecanóico e 1,3-dioxano-4- (hexadecil oxo) - 2-pentadecil; a maioria deles é classificada como compostos fenólicos, além do 7-O- β -D-glucopiranosídeo da luteolina, luteolina e crisoeriol; compostos classificados como flavonóides (Salem *et al.*, 2011).

Foram relatadas atividades biológicas como anticâncer, antiulcera, antimalárico, antidiarreico, antifúngico, antitússico, antiinflamatório, anti-helmíntico e antibacteriano; em estudos realizados com compostos fenólicos, alcalóides, glicosídeos e terpenos (Hernández-Alvarado *et al.*, 2018).

Por outro lado, a cromatografia gasosa permitiu identificar Timol e Carvacrol em concentrações de 0,5319 mg/ml, 0,4158 mg/ml, respectivamente. Esses compostos são classificados como óleos essenciais de natureza volátil, com algumas atividades biológicas relatadas como: expectorante, antifúngico, anti-inflamatório, analgésico, anti-séptico, antioxidante, anti-reumático, antiespasmódico, anti-hepatotóxico e antibacteriano; ambos contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Magi *et al.*, 2015).

Ao realizar a avaliação antibacteriana do extrato metanólico de *Salix babylonica*, determinou-se que o extrato apresenta melhor atividade contra bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Bacillus subtilis*); aquela contra bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella cholerasuis*, *Pseudomonas aeruginosa*). Este efeito é baseado na estrutura das bactérias Gram-negativas, que por terem uma membrana fosfolipídica que impede a parede celular de ser penetrada por solutos lipofílicos; enquanto as porinas constituem uma barreira

seletiva para solutos hidrofílicos, a bactéria é protegida contra a penetração de compostos como antibióticos ou alguns metabólitos secundários derivados de plantas (Kaye *et al.*, 2004; Ndhlala *et al.*, 2015).

Para a determinação da atividade antibacteriana, é importante determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM); definido como CIM na menor concentração de agente antimicrobiano que inibe o crescimento do microrganismo, detectado visualmente (CLSI, 2012). No presente experimento para determinar o ponto final da CIM, foi utilizado um método colorimétrico, com base no uso de sais de tetrazólio (Balouiri *et al.*, 2016); que permite observar uma mudança de cor de amarelo para rosa, causada pela entrada desse sal na célula, que é reduzida pelas oxidoredutases dependentes de NAD (P)H e pelas desidrogenases das células metabolicamente ativas, produzindo a alteração cor a rosa (Berridge *et al.*, 2005).

Sulaiman *et al.*, em 2013, realizaram um estudo no qual avaliaram a atividade antimicrobiana do extrato etanólico da casca de *Sális alba*, pertencente ao gênero sális e à família salicaceae; mesmo que *Sális babylonica*. Neste estudo, eles determinaram que *Sális alba* tem melhor atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*; atividade média contra *Pseudomonas aeruginosa* e não teve efeito contra *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. As concentrações avaliadas foram 10, 20, 40, 60 e 80 mg/ml, utilizando a técnica de difusão em ágar; observando os maiores halos de inibição a 80 mg/ml. Os resultados deste estudo correspondem aos observados no presente experimento, uma vez que o extrato teve um efeito melhor contra bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, 25 mg/ml; *Listeria monocytogenes*, 25 mg/ml e *Bacillus subtilis*, 12,5 mg/ml), que contra bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella cholerasuis* e *Pseudomonas aeruginosa*, 100 mg/ml, para cada); no entanto, o extrato foi obtido da casca de *Sális alba*. As concentrações mudam e a técnica também, portanto, os resultados não são 100% comparáveis, embora as árvores pertençam ao mesmo gênero e família.

Por outro lado, em estudo realizado por Wahab *et al.*, 2018, que avaliaram os extratos metanólicos das folhas e casca de *Sális babylonica*; além de suas frações de éter de petróleo, cloreto de metileno e acetato de etila (diluído em dimetilsulfóxido), para determinar sua atividade antimicrobiana contra bactérias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*) e Gram negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*), utilizando a técnica de difusão em ágar e o extrato a uma concentração de 100 µg. Os resultados mostraram que tanto o extrato metanólico das folhas quanto a casca apresentam atividade antimicrobiana moderada ou fraca contra os microrganismos desafiados; observando os maiores halos de inibição (10 mm) com *Pseudomonas aeruginosa*, seguidos por *Klebsiella pneumoniae* (9 mm), finalmente *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (8 mm).

Porque nos estudos mencionados apenas técnicas são aplicadas para determinar a sensibilidade do microrganismo a um determinado composto pelo método de difusão em ágar. Não é possível comparar os resultados com os obtidos no presente experimento, uma vez que a concentração inibitória mínima foi determinada aqui pelo método de microdiluição em placa. Além do estudo de [Wahab et al.](#), foi utilizado dimetilsulfóxido para diluir extratos e frações; composto que é usado para aumentar a permeabilidade da membrana bacteriana, aumentando a atividade dos compostos e reduzindo as concentrações de uso ([Borges et al., 2013](#); [Sulaiman et al., 2013](#); [Wahab et al., 2018](#)).

A Concentração Inibitória Mínima é definida como a menor concentração de agente antimicrobiano necessária para matar 99,9% do inóculo final, após incubação por 24 horas sob um conjunto padronizado de condições descritas pelo CLSI ([Balouiri et al., 2016](#)). A determinação da CIM não é uma opção viável para conhecer 100% da eficácia de um medicamento ou composto, uma vez que dentro de cada poço ainda pode haver células viáveis se o medicamento avaliado tiver apenas um efeito bacteriostático nas espécies bacterianas em estudo ([Wiegand et al., 2008](#)).

No presente experimento, o CBM do extrato metanólico foi determinado contra *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella cholerasuis* e *Pseudomonas aeruginosa* (200 mg/ml); *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* (50 mg/ml) e *Bacillus subtilis* (25 mg/ml); no entanto, não há estudos relatados com *Sális babylonica* ou outra espécie do gênero *Sális*, com a qual essa atividade foi relatada.

CONCLUSÃO

No presente estudo, foi demonstrado que o extrato metanólico de *Sális babylonica* possui potencial atividade antibacteriana em alguns patógenos bacterianos importantes na saúde pública; sendo uma alternativa para o tratamento de doenças causadas por bactérias resistentes ou multirresistentes a antibióticos.

LITERATURA CITADA

ALÓS JI. 2014. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enfermedades Infecciosas y Microbiologías Clínica*. 33(10):692–699. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2014.10.004>

BALOUIRI M, Sadiki M, Ibnsouda SK. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6(2):71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>.

BAÑUELOS-VALENZUELA R, Delgadillo L, Chairez F, Delgadillo O, Meza-López C. 2018. Composición química y FTIR de extractos etanólicos de *Larrea tridentata*, *Origanum vulgare*, *Artemisa ludoviciana* y *Ruta graveolens* *Agrociencia*. 52(3): 309-321. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6423180>.

BERRIDGE MV, Herst PM, Tan AS. 2005. Tetrazolium dyes as tools in cell biology: new insights into their cellular reduction. *Biotechnology Annual Review*. 11:127-152. [https://doi.org/10.1016/s1387-2656\(05\)11004-7](https://doi.org/10.1016/s1387-2656(05)11004-7).

BORGES A, Ferreira C, Saavedra MJ, Simoes, M. 2013. Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. *Microbial Drug Resistance*. 19(4): 256-265. <https://doi.org/10.1089/mdr.2012.0244>.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2012. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Ninth Edition. Pp. 88. USA.

HERNÁNDEZ-ALVARADO J, Zaragoza-Bastida A, López-Rodríguez G, Peláez-Acero A, Olmedo-Juárez A, Rivero-Perez N. 2018. Actividad antibacteriana y sobre nematodos gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: enfoque en Medicina Veterinaria. *Abanico Veterinario*. 8(1):14-27. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2018.81.1>.

KAEWPIBOON C, Lirdprapamongkol K, Srisomsap C, Winayanuwattikun P, Yongvanich T, Puwaprisirisan P, Svasti J, Assavalapsakul W. 2012. Studies of the in vitro cytotoxic, antioxidant, lipase inhibitory and antimicrobial activities of selected Thai medicinal plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 12(1):217. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-217>.

KAYE KS, Engemann JJ, Fraimow HS, Abrutyn E. 2004. Pathogens resistant to antimicrobial agents: epidemiology, molecular mechanisms, and clinical management. *Infectious disease clinics of North America*. 18(3):467-511. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2004.04.003>.

KHAN UA, Rahman H, Niaz Z, Qasim M, Khan J, Tayyaba, Rehman B. 2013. Antibacterial activity of some medicinal plants against selected human pathogenic bacteria. *European Journal of Microbiology and Immunology*. 3(4): 272–274. <https://doi.org/10.1556/EuJMI.3.2013.4.6>

LOZANO R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, *et al.*, 2012. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. 2012. *The Lancet*. 380(9859):2095-2128. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61728-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61728-0)

MAGI G, Marini E, Facinelli B. 2015. Antimicrobial activity of essential oils and carvacrol, and synergy of carvacrol and erythromycin, against clinical, erythromycin-resistant Group A Streptococci. *Frontiers in Microbiology*. 6:165. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00165>.

MOTHANA RA, Lindequist U, Gruenert R, Bednarski PJ. 2009. Studies of the in vitro anticancer, antimicrobial and antioxidant potentials of selected Yemeni medicinal plants

from the island Soqotra. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 9: 7. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-9-7>.

NDHLALA AR, Ghebrehiwot HM, Ncube B, Aremu AOJ, Gruz M, Subrtova J, Van Staden A. 2015. Antimicrobial, anthelmintic activities and characterization of functional phenolic acids of *Achyranthes aspera* linn, a medicinal plant used for the treatment of wounds and ringworm in east Africa. *Frontiers in Pharmacology*. 6:274. <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00274>.

RENISHEYA JJMT, Johnson M, Mary UM, Arthy A. 2011. Antibacterial activity of ethanolic extracts of selected medicinal plants against human pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 1(1):S76-S78. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60128-7](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60128-7).

RIVERO-PEREZ N, Ayala-Martínez M, Zepeda-Bastida A, Meneses-Mayo M, Ojeda-Ramírez D. 2016. Anti-inflammatory effect of aqueous extracts of spent *Pleurotus ostreatus* substrates in mouse ears treated with 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Indian Journal of Pharmacology*. 48(2):141-144. <https://dx.doi.org/10.4103%2F0253-7613.178826>.

SALEM AFZ, Salem MZ, González-Ronquillo M, Camacho LM, Cipriano M. 2011. Major chemical constituents of *Leucaena leucocephala* and *Salix babylonica* leaf extracts. *Journal of Tropical Agriculture*. 49: 95-98. <http://jtropag.kau.in/index.php/ojs2/article/view/244>

SULAIMAN GM, Hussien NN, Marzoog TR, Awad, HA. 2013. Phenolic content, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of ethanolic extract of *Salix alba*. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 9(1): 41-46. <https://thescpub.com/PDF/ajbbbsp.2013.41.46.pdf>.

WAHAB GA, Sallam A, Elgaml A, Lahhloub M, Afifi MS. 2018. Antioxidant and antimicrobial activities of *Salix babylonica* extracts. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*. 6(4): 1-6. <http://www.wjpsonline.org/>.

WHO (World Health Organization). 2017. *Antimicrobial resistance*. <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/en/>

WIEGAND I, Hilpert K, Hancock REW. 2008. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*. 3(2):163-175. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.521>.