

1           **ATIVIDADE ANTIBIOFILME DE DITERPENO ISOLADO DE *Croton***  
2                           ***antisiphiliticus* FRENTE *Staphylococcus aureus***

3           **(ANTIBIOFILM ACTIVITY OF DITERPENO ISOLATED FROM *Croton***  
4                           ***antisiphiliticus* AGAINST *Staphylococcus aureus*)**

5

6**RESUMO** - O presente estudo teve como principal objetivo avaliar o potencial de atividade  
7antimicrobiana de diterpeno isolado de *Croton antisiphiliticus*, espécie nativa do Cerrado,  
8frente biofilme de *Staphylococcus aureus*, isolados do leite de animais com mastite. O  
9diterpeno ácido ent-kaur-16-em-18-óico foi avaliado quanto à capacidade de erradicação da  
10biomassa e também à redução da população bacteriana sob o biofilme. O antibiótico sulfato  
11de gentamicina foi utilizado como tratamento comparativo. A atividade antibiofilme foi  
12determinada por meio dos métodos do Cristal Violeta (CV) e da Contagem de Unidades  
13Formadoras de Colônia (UFC). Os resultados obtidos demonstraram que o ácido ent-kaur-16-  
14em-18-óico, na concentração de 250µg/mL, reduziu 56% da biomassa formada, enquanto a  
15gentamicina, na concentração de 30mg/mL, apenas 13%. Quanto à atividade nas células  
16bacterianas sob o biofilme, não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos,  
17que minimizaram cerca de 3 logs da população de *S. aureus*, Portanto, nas condições  
18ensaiadas, o diterpeno ent-kaur-16-em-18-óico destacou-se por apresentar atividade  
19antibiofilme significativa contra *S. aureus*, em concentração 120 vezes menor quando  
20comparado ao antibiótico gentamicina.

21**Palavras – chave:** Atividade antimicrobiana. Biofilme. Ácido ent-kaurenoic.

22

23**SUMMARY** - The present study aimed to evaluate the potential antimicrobial activity of  
24diterpene isolated from *Croton antisiphiliticus*, native species of the Cerrado, against biofilm  
25of *Staphylococcus aureus* isolated from milk from animals with mastitis. The diterpene ent-  
26Kaur-16-on-18-oic acid were evaluated for their ability to eradicate biomass and also reducing  
27the bacterial population in the biofilm. The antibiotic gentamicin was used as a comparative  
28treatment. Antibiofilm activity was determined by the methods of Crystal Violet (CV) and  
29Count of Colony Forming Units (CFU). The results demonstrated that the ent-Kaur-16-on-18-  
30oic acid, at a concentration of 250µg/mL, reduced 56% of the biomass formed, while  
31gentamicin, at a concentration of 30mg/ml, only 13%. Regarding the activity in bacterial cells  
32in the biofilm, there was no statistically significant difference between treatments, that

33 minimized about 3 logs of the population of *S.aureus*. Therefore, in the conditions tested, the  
34 diterpene ent-kaur-16-on-18-oic highlighted for presenting antibiofilm significant activity  
35 against *S. aureus*, at a concentration 120 times lower when compared to the gentamicin  
36 antibiotic.

37 **Key - words:** Antimicrobial activity. Biofilm. Ent-kaurenoic acid.

38

39

40

## INTRODUÇÃO

41

42 A utilização de plantas com fins medicinais é uma das mais antigas formas de prática  
43 medicinal da humanidade, porém o uso de fitoterápicos com finalidade profilática, curativa,  
44 paliativa ou com fins de diagnóstico passou a ser oficialmente reconhecido pela Organização  
45 Mundial da Saúde em 1978. Estima-se que 80% da população do planeta utilizam de algum  
46 modo, plantas medicinais como medicamentos (GARCIA, 1995).

47 Estudo calcula que 50% dos fármacos empregados para o tratamento de infecções são  
48 de origem natural ou semissintética, e foram protótipos para 19,4% dos medicamentos  
49 sintéticos (PRETTO, 2005).

50 A capacidade terapêutica dos compostos vegetais é atribuída à síntese de substâncias  
51 químicas que participam dos mecanismos de defesa da planta, denominadas metabólitos  
52 secundários. Há diversos fatores que podem influenciar na produção dessas substâncias e  
53 como consequência, na ação terapêutica da planta, tais como sazonalidade, temperatura,  
54 disponibilidade hídrica, ciclo circadiano, radiação ultravioleta, altitude, disponibilidade de  
55 nutrientes, exposição a patógenos, interações e adaptações co-evolutivas do ecossistema  
56 envolvido, dentre outros. (GOBBO-NETO, 2007).

57 Em Medicina Veterinária, os extratos vegetais de plantas ou substâncias ativas vêm  
58 sendo utilizados para tratamentos de parasitoses e enfermidades infecciosas, inclusive em  
59 tratamentos de mastite bovina.

60 A mastite, processo inflamatório da glândula mamária, é classificada de acordo com a  
61 forma de apresentação, podendo ser clínica ou subclínica (PIANTA, 1997). *Staphylococcus*  
62 *aureus* destaca-se como o principal agente etiológico da mastite contagiosa e importante  
63 microrganismo na epidemiologia de doenças veiculadas por alimentos, devido a sua alta  
64 prevalência e produção de toxinas termorresistentes causadoras de intoxicações alimentares  
65 no ser humano (SILVA et al., 2010; MELLO et al., 2012). É uma enfermidade de difícil  
66 controle e com grande impacto econômico e epidemiológico.

67 O tratamento convencionalmente realizado por antibioticoterapia, muitas vezes de  
68 forma ostensiva e inadequada, proporciona resistência bacteriana a diversos princípios ativos  
69 e acarreta sérios prejuízos ao consumidor, à indústria e ao rebanho, devido ao risco da  
70 presença de resíduos de antibióticos no produto final (BRANCO et al., 2012; VIEIRA et al.,  
71 2012).

72 Mitidiero (2012) concluiu que o controle sanitário em um rebanho leiteiro de alta  
73 produção pode ser feito através do uso de homeopatia, bioterápicos e fitoterapia em  
74 substituição aos medicamentos alopáticos, com redução nos custos de produção, sem  
75 comprometer o desempenho produtivo e sem os riscos da contaminação do leite por resíduos.  
76 Outro estudo determinou como positiva a atividade antisséptica e desinfetante de algumas  
77 espécies de plantas frente microrganismos causadores de mastite (*Staphylococcus*,  
78 *Streptococcus* e *Pseudomonas*) (SCHUCH, 2008).

79 *Staphylococcus aureus* possui estirpes capazes de produzir biofilmes, que são  
80 constituídos por bactérias aderidas a qualquer superfície envolvidas por uma matriz de  
81 polímeros orgânicos, denominada biomassa, sob os quais os microrganismos continuam a se  
82 multiplicar (COSTERTON et al., 1999). As células em biofilme apresentam características  
83 de desenvolvimento e traços fenotípicos únicos, quando comparados com as mesmas células  
84 presentes em culturas planctônicas (livres), tornando-as 10 a 1000 vezes mais resistentes a

85agentes antimicrobianos e fatores imunes do hospedeiro (ZANIN et al., 2006). Também são  
86mais resistentes à ação de agentes físicos e químicos como os utilizados nos procedimentos de  
87higienização (MARQUES, 2005). Portanto, as características do microrganismo causador  
88também interferem no sucesso terapêutico da mastite bovina.

89 Diversos estudos utilizando extratos vegetais com atividade inibitória sobre células  
90livres e aderidas apresentaram resultados notáveis (SAISING et al., 2011; COBRADO et al.,  
912012; LAPLANT et al., 2012).

92 Segundo Nader (2010), o extrato clorofórmico de *Croton antispyhiliticus*, na  
93concentração de 5mg/mL, apresentou destacada atividade bactericida *in vitro*, inibindo a  
94multiplicação de *Staphylococcus aureus* isolados de leite de animais com mastite, com  
95resultados superiores aos obtidos com o antibiótico sulfato de gentamicina (30 mg/mL),  
96utilizado no estudo.

97 Um estudo fitoquímico do extrato clorofórmico da raiz de *Croton antispyhiliticus*  
98realizado por Pereira et al. (2012), avaliou a atividade antimicrobiana e demonstrou que o  
99ácido ent-kaur-16-em-18-óico foi isolado como componente majoritário com um valor de  
100Concentração Inibitória Mínima (MIC) de 250µg/mL contra *S. aureus* ATCC 6538 na forma  
101livre. Em relação a isolados clínicos de *S. aureus* a MIC foi de 2mg/mL. De acordo com a  
102composição e estruturação molecular, esta substância foi considerada um epímero do ácido  
103kaurenóico, ou seja, diferem no posicionamento do grupo hidroxila. A MIC do ácido  
104kaurenóico, nas mesmas condições, foi de 125 µg/mL e 2mg/mL, respectivamente, para cepa  
105ATCC e isolado clínico de *S. aureus*. Neste estudo, a gentamicina foi utilizada como controle  
106negativo na MIC de 0,125 µg/mL (PEREIRA et al., 2012).

107 Wilkens et al. (2002) constataram atividade bactericida do diterpeno natural ácido  
108kaurenóico frente bactérias gram positivas. Segundo Jeong et al. (2013), o ácido kaurenóico  
109isolado a partir de *Aralia continentalis* atuou de maneira significativa sobre o biofilme de

110 *Streptococcus mutans*, em concentrações de 4 µg/mL. Popularmente *Croton antisiphiliticus*  
111 Mart. é conhecido como pé-de-perdiz e suas folhas frescas são utilizadas no tratamento de  
112 lesões de pele, inflamações e como cicatrizante (RODRIGUES et al., 2002; FENNER et al.,  
113 2006).

114 Assim, considerando a vasta diversidade vegetal com potencial terapêutico existente no  
115 Cerrado, o presente estudo teve como objetivo investigar o potencial de atividade  
116 antimicrobiana *in vitro* de um diterpeno tipo ent-kaurane, isolado a partir de raízes de *Croton*  
117 *antisiphiliticus*, frente *Staphylococcus aureus* em biofilme.

118

119

## MATERIAL E MÉTODOS

120

121 O diterpeno ácido ent-kaur-16-em-18-óico foi isolado a partir do extrato clorofórmico  
122 de raízes de *Croton antisiphiliticus* por Pereira et al. (2012), e gentilmente cedido pelo  
123 Departamento de Biotecnologia de Plantas Medicinais da Universidade de Ribeirão Preto  
124 (UNAERP). Esta substância foi avaliada na concentração de 250 µg/mL.

125 Para efeito comparativo, o antibiótico sulfato de gentamicina (Sigma aldrich®) também  
126 foi avaliado neste estudo, na concentração de 30 mg/mL, por ser esta, a apresentação  
127 comercial mais utilizada para o tratamento da mastite bovina (FONTANA et al., 2011).

128 Quanto ao *Staphylococcus aureus*, foram utilizadas 5 estirpes isoladas de leite de  
129 animais com mastite e identificadas genotípica e fenotipicamente por Melo (2012) como  
130 produtoras de biofilme, sendo uma cepa padrão ATCC 25923.

131 Para a formação de biofilme *in vitro* as estirpes foram padronizadas em  
132 espectrofotômetro ( $10^5$  UFC/mL) e incubadas em placas de 96 poços, utilizando meio de  
133 cultura Brain Heart Infusion (BHI) enriquecido com glicose 2%, a 37°C, sob agitação (120

134rpm). Após 24 horas de incubação, as placas foram lavadas duas vezes com 200 µL de  
135solução salina a 0,9%, para remoção de células não aderidas.

136 As células bacterianas que permaneceram aderidas ao poço receberam 100 µL do meio  
137de cultura (BHI enriquecido com glicose 2%) e 100 µL das substâncias a serem avaliadas  
138quanto ao potencial de erradicação do biofilme formado. A placa foi incubada nas mesmas  
139condições descritas anteriormente.

140 Para avaliação da atividade das substâncias sobre o biofilme de *S. aureus* foram  
141utilizados dois métodos, tais como o Cristal Violeta (CV) e a Contagem de Unidades  
142Formadoras de Colônia (UFC/mL).

143 A técnica do Cristal Violeta consistiu na lavagem dos poços para remoção das células  
144não aderidas com solução salina, seguida da adição de 200µl de metanol para fixação das  
145células aderidas (permanência por 5 minutos), adição de 200µl do cristal violeta (solução  
146Violeta Cristal em meio aquoso Dinamica®), lavagem com água destilada e uso de ácido  
147acético a 33% (200µl) para leitura de densidade óptica do biofilme (GOMES, 2010). O  
148inóculo livre de tratamento foi o controle negativo. Esta técnica tem a propriedade de  
149mensurar a quantidade de biomassa formada (matrix de polissacarídeos).

150 A Contagem de Unidades Formadoras de Colônia permitiu quantificar as células que  
151permaneceram viáveis sob o biofilme após os tratamentos. Nesta técnica, as placas também  
152foram lavadas com solução salina, conforme descrito, em seguida os poços foram raspados  
153(utilizando ponteiros estéreis de 200µl) e a placa foi submetida a um banho de ultrassom para  
154promover desagregação das células aderidas, possibilitando a contagem. O tempo de  
155exposição ao ultrassom que conferiu maior desagregação sem ocasionar morte celular neste  
156experimento, foi padronizado em 8 minutos, na frequência de 40Hz (Unique® Ultrasonic  
157Cleaner). Para a contagem das colônias, o conteúdo dos poços foi diluído em até doze vezes.  
158Posteriormente, fez-se o plaqueamento em meio de cultura Agar Brain Heart Infusion (em

159placas de Petri de 90mm) na forma de gotejamento (3 gotas/10 $\mu$ L cada), incubou-se por 24  
160horas a 37°C (GOMES, 2010). Os valores obtidos foram transformados em escala  
161logarítmica.

162 Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

163 A análise estatística do experimento foi realizada pelo programa SISVAR, versão  
164 Sisvar 5.1 Build 72 (FERREIRA, 2008). O teste estatístico aplicado foi Scott Knott, com  
165 nível de significância de 0,05 ( $\alpha = 0,05$ ).

166

## 167 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

168

169 De acordo com a técnica do Cristal Violeta, o diterpeno ácido ent-kaur-16-em-18-óico,  
170na concentração de 250 $\mu$ g/mL, erradicou 56% da biomassa, enquanto o sulfato de  
171gentamicina, na concentração de 30mg/mL, erradicou 13,9% da matrix bacteriana. Portanto, a  
172substância de origem vegetal em estudo, apresentou atividade sobre a biomassa de *S. aureus*  
173significativamente superior ao antibiótico gentamicina ( $p < 0,5$ ) (Tabela 1).

174 No que diz respeito à quantificação das células bacterianas viáveis sob o biofilme, por  
175meio da Contagem de Unidades de Colônia, o diterpeno ácido ent-kaur-16-em-18-óico  
176apresentou desempenho semelhante à gentamicina, reduzindo cerca de 3 logs da população  
177bacteriana ( $p > 0,05$ ), porém em concentrações 120 vezes inferior (Tabela 1).

178 No presente estudo, a atividade antimicrobiana do diterpeno ácido ent-kaur-16-em-18-  
179óico, oriundo da raiz de *Croton antispyhiliticus* na concentração de 250 $\mu$ g/mL, corroborou  
180com os dados apresentados por Pereira et al. (2012), que apresentou atividade antimicrobiana  
181frente estirpes livres de *S. aureus*, nas mesmas concentrações. Bem como, concordou com  
182Nader (2010), que constatou a atividade do extrato clorofórmico da raiz de *Croton*

183 *antisyphiliticus*, frente o mesmo microrganismo. Segundo Wilkens et al. (2002), os diterpenos  
184 naturais possuem atividade bactericida sobre bactérias gram positivas.

185 Em comparação ao ácido kaurenóico isolado a partir de *Aralia continentalis*, os valores  
186 de MIC obtidos neste estudo, divergem dos resultados apresentados por Jeong et al. (2013),  
187 que avaliou a atividade antibiofilme de *Streptococcus mutans*. Tal fato deve-se às  
188 características do microrganismo presente no biofilme e também às diferenças químicas  
189 estruturais entre as substâncias analisadas (ácido ent-kaur-16-em-18-óico e ácido kaurenóico).

190 Pereira et al (2012) demonstraram que a gentamicina inibiu a multiplicação de estirpes  
191 de *S. aureus* na concentração de 125 µg/mL. No presente estudo, o mesmo antibiótico, na  
192 concentração de 30 mg/mL, não foi capaz de eliminar todos os microrganismos em biofilme.  
193 Esta diferença ocorreu em função da condição de multiplicação celular em biofilme, que  
194 dificulta consideravelmente a ação de qualquer substância, podendo tornar os microrganismos  
195 até 1000 vezes mais resistentes a agentes antimicrobianos, desinfetantes, sanitizantes e  
196 também a fatores imunes do hospedeiro (ZANIN et al., 2006; MARQUES, 2005).

197

198

## CONCLUSÃO

199

200 No presente estudo, o diterpeno ácido ent-kaur-16-em-18-óico, isolado a partir de  
201 extrato clorofórmico de raiz de *Croton antisyphiliticus*, destacou-se por apresentar atividade  
202 antibiofilme significativa contra *Staphylococcus aureus*, em concentração 120 vezes menor  
203 quando comparado ao antibiótico gentamicina. Assim, considerando os diversos aspectos  
204 relacionados ao tratamento da mastite bovina e à resistência bacteriana, como a presença de  
205 biofilmes, o diterpeno ácido ent-kaur-16-em-18-óico pode representar uma possibilidade  
206 terapêutica futura, embora novos estudos sejam necessários.

207



208

209

210

211

212

213

214

215

216

217

218

219

220

221

222

223

224

225

226

227

228

229

230

## **REFERÊNCIAS**

231

232BRANCO, L. O.; DIAS, R.F.; LIMA-RIBEIRO, A.M.C. Bases de medicamentos para mastite  
233mais vendidas na região de Uberlândia. **Veterinária Notícias**, v.18. n. 2, p. 26, 2012.

234COBRADO, L.; AZEVEDO, M.M.; SILVA-DIAS, A.. Cerium, chitosan and hamamelitannin  
235as novel biofilm inhibitors? **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.67, n.5, p.1159-  
2361162, 2012.

237COSTERTON, J. W.; STEWART, P.S.; GREENBERG, E.P. Bacterial Biofilms: A common  
238cause of persistent infections. **Science**, v.284, p.1318-1322, 1999.

239FENNER, R.; BETTI, A.H.; MENTZ, L.A.; RATES, S.M.K. Plantas utilizadas na medicina  
240popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências**  
241**Farmacêuticas**, v.42, n.3, 2006.

242GARCIA, E. S. Biodiversidade, biotecnologia e saúde. **Cadernos de Saúde Pública**, v.11,  
243n.3, p.495-500, 1995.

244GOBBO-NETO, L.; LOPES, P.N. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de  
245metabólitos secundários. **Química Nova**, v.30, n.2, 2007.

246GOMES, I.A.G. **New therapeutic strategies against *Staphylococcus epidermidis* biofilms.**  
247Dissertation for PhD degree in Biomedical Engineering. Escola de Engenharia. Universidade  
248do Minho. Portugal. 2010.

249JEONG, S.; KEUM, K.S.; LEE, K.H.; KANG, S.Y.; PARK, B.I. Kaurenoic Acid from  
250*Aralia continentalis* Inhibits Biofilm Formation of *Streptococcus mutans*. **Evidence-based**  
251**Complementary and Alternative Medicine**, 2013. Acesso em 08 de agosto de 2013.  
252Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1155/2013/160592>>.

253

254LAPLANT, K.L.; SARKISIAN, S.A.; WOODMANSEE, S. **Effects of Cranberry Extracts**  
255 **on Growth and Biofilm Production of *Escherichia coli* and *Staphylococcus* species.**  
256 **Phytotherapy Research**, v.26, n.9, p.1371–1374, 2012.

257MARQUES, C.S. **Formação de Biofilmes por *Staphylococcus aureus* na superfície de aço**  
258**inoxidável e vidro e sua resistência a sanificantes químicos.** Dissertação (Mestrado em  
259Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG, 2005.

260MELO, P.C.; FERREIRA, L.M.; NADER-FILHO, A.; ZAFALON, L.F.; VICENTE, H.I.G.  
261Análise fenotípica e molecular da produção de biofilmes por estirpes de *Staphylococcus*  
262*aureus* isoladas de casos de mastite subclínica bovina. **Bioscience**, v.28, n.1, 2012.

263MELLO, P.L.; AGOSTINIS, R.O.; BARZON, E.M.; COLOMBO, R.B.; SILVA, A.V.;  
264MARTINS, L.A. Prevalência da mastite subclínica e associação dos agentes etiológicos com a  
265contagem de células somáticas de vacas leiteiras da região Sudoeste do Paraná. **Veterinária e**  
266**Zootecnia**, v.19, n.4, p. 513-521, 2012.

267MITIDIERO, A.M.A. **Potencial do uso de homeopatia, bioterápicos e fitoterapia como**  
268**opção na bovinocultura leiteira.** Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa  
269Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas.  
2702012.

271NADER, T.T.; COPPEDE, J.S.; AMARAL, L.A.; FACCHIN, A.L.; PEREIRA, A.M.S.,  
272FERREIRA, L.M. Avaliação *in vitro* da eficácia de extratos de plantas medicinais do Cerrado  
273frente *Staphylococcus aureus* isolados de diferentes fontes de propriedades leiteiras.  
274**Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.3, p.429-433, 2010.

275PEREIRA, S.; TALEB-CONTINI, S.; COPPEDE, J.S.; PEREIRA, P.; BERTONI, B.;  
276FRANÇA, S.; PEREIRA, A.M.S. An *ent*-Kaurane-Type Diterpene in *Croton antisiphiliticus*  
277Mart. **Molecules**, v.7, p.8851-8858, 2012.

278PRETTO, J.B. **Potencial antimicrobiano de extratos, frações e compostos puros obtidos**  
279**de algumas plantas da flora catarinense.** Dissertação (Mestrado em Ciências  
280Farmacêuticas), Universidade do Vale do Itajaí, Vale do Itajaí, 74p. 2005.

281PIANTA, C. **Mastite Bovina: Informações ao Produtor.** Porto Alegre: FEPAGRO. Circular  
282Técnica, 15. 1997. 12p.

283RODRIGUES, L.A.; CARVALHO, D.A.; GOMES, L.J. **Espécies vegetais nativas usadas**  
284**pela população local em Luminárias - MG.** Boletim Agropecuário. Lavras - MG. n.52, p.1-  
28534, 2002.

286SAISING, J.; ONGSAKUL, M.; VORAVUTHIKUNCHAI, S.P. *Rhodomyrtus tomentosa*  
287(Aiton) Hassk. Ethanol extract and rhodomyrtone: a potential strategy for the treatment of  
288biofilm-forming staphylococci. **Journal Medicine Microbiology**, v.60, n.12, p.1793-1800,  
2892011.

290SCHUCH, L.F.D. **Plantas medicinais em atenção primária veterinária: atividade**  
291**antimicrobiana frente a bactérias relacionadas com mastite bovina e a dermatófitos.**  
292Tese (Doutorado). Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul,  
293Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, 2008.

294SILVA, E.P.; BERGAMINI, A.M.M.; OLIVEIRA. M.A. **Toxinfecções alimentares na**  
295**região de Ribeirão Preto, SP, Brasil – 2005 a 2008.** Boletim Epidemiológico Paulista, v.7,  
296n.77, p.4-10, 2010.

297VEIRA, T.S.W.J.; RIBEIRO, M.R.; NUNES, M.P.; MACHINSKI JÚNIOR, M.; NETTO,  
298D.P. Detecção de resíduos de antibióticos em amostras de leite pasteurizado do Estado do  
299Paraná, Brasil. **Ciências Agrárias**, Londrina, v.33, n.2, p.791-796, 2012.

300ZANIN I.C.J.; RODRIGUES, I.K.A.; PIMENTA, L.A.F.; HÖFLING, J.F.; GONÇALVES,  
301R.B. Photosensitization of *in vitro* biofilms by toluidine blue O combined with light-  
302emitting diode. **European Journal of Oral Science**. V.114: p. 64-9, 2006.

303Tabela 1. Médias de atividade antibiofilme do diterpeno ácido ent-kaur-16-em-18-óico,  
 304oriundo da raiz de *Croton antisiphiliticus* na concentração de 250µg/mL, frente  
 305*Staphylococcus aureus*, em comparação com sulfato de gentamicina, na concentração de 30  
 306mg/mL.

<b>Tratamentos</b>	<b>Cristal Violeta (CV)</b>	<b>Contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL)</b>
<b>ácido ent-kaur-16-em-18-óico 250µg/mL</b>	56% a*	11,42 a**
<b>Gentamicina 30 mg/mL</b>	13,9% b*	11,40 a**
<b>Controle</b>	0% c*	14,54 b**

307Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott  
 308Knott ( $\alpha=0,05$ ). \*Letras correspondentes à análise estatística do método CV, \*\*Letras  
 309correspondentes à análise estatística do método UFC/mL.

310

311