



Avaliação da atividade antibacteriana da microalga *Spirulina platensis*

Parisi, A.S.¹; Younes, S.¹; Reinehr, C.O.²; Colla, L.M.²

¹Curso de Farmácia, Universidade de Passo Fundo,

²Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade de Passo Fundo

Recebido: 06/07/2009 / Aceito: 23/02/2010

RESUMO

Infecções são agravadas pelo aumento da resistência dos microrganismos a substâncias antimicrobianas. A necessidade de descoberta de novos medicamentos em decorrência desta resistência microbiana tem impulsionado o desenvolvimento de novas pesquisas. A *Spirulina platensis*, reconhecida pelas suas propriedades nutricionais, possui alta quantidade de compostos fenólicos, os quais podem apresentar também propriedades antimicrobianas. Objetivou-se cultivar a microalga *Spirulina platensis*, avaliar a produção de compostos fenólicos pela mesma, caracterizar a possível atividade antimicrobiana dos fenóis frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, a *Pseudomas aeruginosa* ATCC 27853 e o *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P e determinar a concentração inibitória mínima do extrato fenólico frente às bactérias citadas. Os resultados demonstraram que elevadas concentrações de nitrato de sódio (4g/L) no meio de cultivo não aumentaram a produção de compostos fenólicos. A microalga cultivada com 2 g/L de nitrato de sódio apresentou 2,13 mg/g de compostos fenólicos, sendo que os extratos apresentaram atividade antibacteriana contra o *S. aureus*, bactéria Gram-positiva, com halo de inibição de 22 mm e 19 mm e concentração inibitória mínima de 47,46 mg/mL, indicando sua importância como potencial inibidor de *S. aureus*.

Palavras-chave: Antimicrobianos. Compostos fenólicos. *Spirulina platensis*.

INTRODUÇÃO

As infecções bacterianas representam um problema de saúde mundial que elevam os gastos na saúde pública e contribuem para o aumento da taxa de mortalidade, sendo a crescente resistência dos microrganismos patogênicos

às substâncias antimicrobianas uma das principais causas do agravamento destas infecções. Esta resistência é favorecida pelo uso indiscriminado de antimicrobianos que aumentam o desenvolvimento de linhagens resistentes frente aos microrganismos patogênicos (Tortora et al., 2005). Isto ocorre por meio da pressão seletiva resultante de seu emprego clínico (humano e veterinário), industrial (conservação de alimentos), comercial (engorda de animais) e experimental (Caierão et al., 2004).

Em virtude disso, novas pesquisas devem ser realizadas a fim de que novos compostos sejam descobertos e possam ser usados no combate futuro a esses microrganismos, como por exemplo, compostos extraídos de microalgas como a *Spirulina*, reconhecida mundialmente devido ao seu uso na alimentação humana e como alimento funcional e nutracêutico.

Trabalho de revisão sobre a *Spirulina* (Ambrosi et al., 2008) mostrou que esta microalga é utilizada como alimento pelo homem devido sua composição química, que apresenta elevada qualidade e quantidade protéica, aminoácidos essenciais, minerais, ácidos graxos poliinsaturados e vitaminas. Possui grande quantidade de compostos fenólicos (ácidos caféico, clorogênico, salicílico, sináptico e trans-cinâmico), tocoferol e pigmentos como carotenóides, ficocianina e clorofila. É considerada um microrganismo GRAS (*Generally accepted as safe*), não apresentando toxicidade, sendo permitida como suplemento alimentar pela FDA. É utilizada no desenvolvimento de alimentos funcionais e produtos nutracêuticos visto apresentar efeitos de promoção à saúde, como diminuição da hiperlipidemia, diminuição da pressão arterial, proteção a danos renais, promoção do crescimento de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* na microbiota intestinal, diminuição dos níveis séricos de glicose, aumento da fertilidade e da resposta anti-mutagênica e anti-tumoral. Atualmente têm se dado grande atenção as suas propriedades antioxidantes, atribuídas aos compostos fenólicos e a ficocianina. (Miranda et al, 1998; Belay, 2002; Torres-Duran et al., 2007; Colla et al., 2007a; Colla et al., 2008; Yamane, 2008).

A diversidade de estruturas químicas presentes na *Spirulina*, a facilidade e os baixos custos de sua produção, bem como seu uso milenar na alimentação, que descarta a possibilidade de efeitos adversos graves ou intoxicações

(Belay, 2002), possibilita a sua utilização como matéria-prima na produção/síntese de novos fármacos.

Kaushik & Chauhan (2008) testaram a ação antibacteriana de extratos da *Spirulina* obtidos com solventes como hexano, acetato de etila, diclorometano e etanol, frente a bactérias como o *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* e *Klebsiella pneumoniae*, sendo que o extrato metanólico foi o que apresentou os melhores resultados. Entretanto, os compostos responsáveis por esta atividade não foram estudados. O objetivo do presente trabalho foi cultivar a microalga *Spirulina platensis*, extrair e determinar a quantidade de compostos fenólicos totais produzidos pela microalga, avaliar o potencial antimicrobiano dos compostos fenólicos frente aos microrganismos *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 e *S. aureus* ATCC 6538P e determinar a concentração inibitória mínima do extrato frente às bactérias.

MATERIAL E MÉTODOS

Microrganismos

Os microrganismos utilizados foram a microalga *S. platensis*, obtida do Laboratório de Fermentações do curso de Engenharia de Alimentos da UPF, e os microrganismos *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 e *S. aureus* ATCC 6538P, obtidos do banco de cepas do Laboratório de Bacteriologia do curso de Farmácia da UPF.

Produção da microalga *S. platensis* alternando a concentração de nitrato de sódio

A produção de biomassa foi realizada utilizando-se o meio Zarrouk (Zarrouk, 1966), padrão para o cultivo da microalga, com variações nas concentrações de nitrato de sódio utilizadas (2 e 4 g.L⁻¹). Os cultivos foram realizados em erlenmeyers de 2 L, com um volume inicial de 1,8 L de meio e concentração inicial de biomassa de 0,15 g.L⁻¹. A aeração dos cultivos foi realizada através de bombas de diafragma e a iluminação de 1800 lux, fornecida através de lâmpadas fluorescentes em uma estufa termostatizada não estéril, com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 30°C. Os cultivos foram realizados durante 23 dias, sendo a biomassa filtrada, seca em estufa a 50°C durante 24 h e estocada a -20°C ao final dos cultivos até a realização dos ensaios de quantificação de compostos fenólicos e determinação da atividade antimicrobiana.

Determinação da cinética de crescimento da microalga

Alíquotas de 5 mL dos cultivos foram retiradas a cada 24 h a fim de se determinar a concentração de biomassa e o pH dos cultivos. A concentração celular foi determinada a partir de uma relação pré-estabelecida entre a concentração e a absorbância a 670 nm (ABS = 985,35.X (g/mL) + 0,027). Os dados de concentração celular foram plotados versus o tempo de cultivo e determinados os

parâmetros cinéticos de concentração celular máxima, velocidade específica máxima de crescimento e tempo de geração da microalga, os quais foram determinados através das Equações 1 e 2.

$$\mu = \frac{1}{X} \frac{dX}{dt} \quad (1)$$

Onde:

μ = velocidade específica de crescimento (h⁻¹)

X = concentração celular (g.L⁻¹)

t = tempo(h)

$$tg = \frac{\ln 2}{\mu_{\max}} \quad (2)$$

Onde:

tg = tempo de geração (h)

μ_{\max} = velocidade específica máxima de crescimento (h⁻¹)

Extração e quantificação de compostos fenólicos na biomassa

Para a extração dos compostos fenólicos, 1 g da biomassa foram extraídas com 10 mL de metanol em agitador magnético a 25°C durante 1h, seguido de 30 min de repouso e nova extração com 10 mL de metanol durante 30 min, com posterior filtração em papel filtro Whatman 40. O extrato obtido foi purificado para a remoção da clorofila, sendo posteriormente feita a quantificação dos compostos fenólicos segundo metodologia padronizada por Colla et al. (2007b), baseada no método de Folin-Ciocalteu.

Determinação da atividade antimicrobiana

A determinação da atividade antimicrobiana dos compostos fenólicos da microalga foi realizada a partir do extrato metanólico não purificado e seco em rota-evaporador. A atividade antimicrobiana frente aos microrganismos *S. aureus* ATCC 6538P, *P. aeruginosa* ATCC 27853 e *E. coli* ATCC 25922 foi realizada através dos métodos de difusão em discos e concentração inibitória mínima segundo a norma M₂-A₈, 8° edição, 2003 e a norma M₇-A₆, 6° edição, 2003, respectivamente, aprovadas pelo Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).

Os discos foram impregnados com 20 µL do extrato fenólico da microalga dissolvido em água destilada estéril (50 mg/mL), totalizando 1 mg de extrato fenólico da *Spirulina* por disco.

Tratamento dos resultados

Os resultados obtidos foram tabelados e calculados as médias e desvios-padrão através do Software Excel. A análise de variância e comparação de médias foi realizada através do Software Statistics for Windows 6.0.

RESULTADOS

Cinética de crescimento da microalga *Spirulina*

A Tabela 1 apresenta os intervalos da fase logarítmica de crescimento (Δ_{\log}), a velocidade específica máxima de crescimento (μ_{\max}), o tempo de geração (T_g), o coeficiente de determinação da correlação exponencial (R^2) e as concentrações celulares máximas (X_{\max}) obtidas nos experimentos realizados com 2 e 4 g.L⁻¹ de nitrato de sódio como componente do meio Zarrouk, na temperatura de 30°C.

Tabela 1: Resultados da cinética de crescimento da *Spirulina*, em diferentes concentrações de NaNO₃

NaNO ₃ (g.L ⁻¹)	Réplicas	Δ_{\log}	μ_{\max}	T_g	R^2	X_{\max}
2	1	0 – 12 d	0,1660	4,17	0,9848	1,497
	2	0 – 12 d	0,1942	3,57	0,9890	1,751
	3	0 – 12 d	0,1578	4,39	0,9918	1,289
4	1	0 – 12 d	0,1757	3,94	0,9863	1,502
	2	0 – 12 d	0,1696	4,09	0,9563	1,391
	3	0 – 12 d	0,1527	4,54	0,9771	1,365

Influência da concentração de nitrogênio do meio de cultivo sobre a produção de compostos fenólicos na microalga

As biomassas obtidas a partir dos cultivos com 2 e 4 g/L de nitrato de sódio apresentaram 4,22±0,06 mg.g⁻¹ e 4,41±0,08 mg.g⁻¹ de compostos fenólicos, respectivamente, sendo que estes valores não diferiram entre si em um nível de significância de 5% (p=0,291).

Testes antimicrobianos em difusão em ágar e CIM

A Tabela 2 apresenta os resultados dos testes antimicrobianos dos extratos de *Spirulina* através do teste de difusão em disco, frente aos microrganismos *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*. A concentração inibitória mínima dos extratos fenólicos da *Spirulina* obtida para inibir o crescimento da bactéria *S. aureus* foi de 47,46 mg.mL⁻¹.

Tabela 2 Resultados dos testes antimicrobianos dos extratos fenólicos da microalga *Spirulina* usando o método de difusão em disco

Extrato	Bactéria	Controle positivo	Halo de inibição (mm)*
CF cultivo 2 g.L ⁻¹	<i>P. aeruginosa</i>	27 mm	-
	<i>E. coli</i>	26 mm	-
	<i>S. aureus</i>	35 mm	22 ± 1,41
CF cultivo 4 g.L ⁻¹	<i>P. aeruginosa</i>	27 mm	-
	<i>E. coli</i>	26 mm	-
	<i>S. aureus</i>	35 mm	19 ± 1,41

CF: compostos fenólicos;

-: sem atividade;

* Resultados de média ± desvio-padrão

Controle positivo: Ampicilina: 10 µg/disco (*S. aureus*); Cloranfenicol: 30 µg/disco (*E. coli*) e Cefepime: 10 µg/disco (*P. aeruginosa*)

DISCUSSÃO

Cinética de crescimento da microalga *Spirulina*

Não foram observadas diferenças significativas entre as concentrações máximas de biomassa (p=0,543) e as velocidades específicas máximas de crescimento (p=0,635) obtidas nos cultivos realizados com 2 e 4 g.L⁻¹ de nitrato de sódio. Desta forma, os cultivos podem ser realizados utilizando-se 2 g.L⁻¹ de nitrato de sódio como fonte de nitrogênio sem detrimento no crescimento celular e com menores gastos na produção. Resultados semelhantes foram obtidos por Colla et al. (2007b), que demonstraram que quando a temperatura de cultivo utilizada é 30°C, a concentração de nitrogênio não influencia significativamente a produção de biomassa, podendo ser reduzida para 0,625 g L⁻¹ sem perda da produtividade de biomassa, ocasionando uma diminuição dos custos de produção.

O pH dos cultivos realizados de *Spirulina* manteve-se entre 9,67 e 10,88 permanecendo em uma faixa adequada para o crescimento da microalga (Vonshak, 1997). O pH é um fator de grande importância para o desenvolvimento da *Spirulina*, que necessita de um meio de cultura altamente básico (Macedo & Alegre, 2001; Costa et al., 2002).

Influência da concentração de nitrogênio do meio de cultivo sobre a produção de compostos fenólicos na microalga

O aumento da concentração de nitrato de sódio no meio de cultivo de 2 para 4 g.L⁻¹ não ocasionou aumento na concentração de compostos fenólicos obtidos na biomassa da microalga *S. platensis*. Estes resultados foram semelhantes aos obtidos por Colla et al. (2007b), os quais demonstraram que na temperatura de 30°C a absorção de nitrogênio não é influenciada pelas concentrações de nitrato de sódio no meio de cultivo. Entretanto, segundo os mesmos autores, em cultivos mantidos a 35°C, maiores concentrações de nitrato de sódio (2,8 g.L⁻¹) ocasionaram o acúmulo de maiores concentrações de compostos fenólicos, o que pode ser devido a maior produção que ocorre destes compostos em situações de estresse metabólico.

Testes antimicrobianos em difusão em ágar e CIM

Os compostos fenólicos presentes na *Spirulina* apresentaram capacidade de inibição para o *S. aureus*, bactéria Gram-positiva, formando halos de 19 a 22 mm. Entretanto, nenhuma inibição foi observada frente as bactérias Gram-negativas *E. coli* e *P. aeruginosa*, o que pode estar relacionado com as diferenças estruturais que estas bactérias apresentam em relação às Gram-positivas, tais como a presença de uma membrana externa sobre uma camada delgada de peptidoglicano, a presença de cápsula ou membrana interna, ou a presença de porinas (Koneman et al., 1999), que podem estar dificultando a ação dos compostos fenólicos. Assim, supõe-se que ocorra uma inibição da síntese da parede celular do *S. aureus*, a qual é composta por uma espessa camada de peptidoglicano que protege a membrana citoplasmática da bactéria. Segundo

Cowan (1999) a atividade antimicrobiana de substâncias fenólicas pode estar ligada à capacidade que estas possuem de complexarem-se a proteínas extracelulares da membrana bacteriana, provocando assim sua morte.

Extratos metanólicos obtidos a partir de *Mentha pulegium* L. (poejo), *Xanthosema violaceum* Schott (taioba) e *Syzygium cuminii* L. (jambolão) demonstraram que estas plantas necessitam, respectivamente, de 200, 50 e 60 mg.mL⁻¹ de extrato para inibir o *S. aureus*, no teste de difusão em ágar (Michelin et al., 2005). O extrato metanólico de *Lippia alba* Mill (erva-cidreira) necessita de 100 mg.mL⁻¹ para o mesmo efeito, e gera halos de inibição de 13 mm (Sena-Filho et al., 2006). Os extratos fenólicos obtidos a partir da microalga *Spirulina* no presente estudo, inibiram o *S. aureus* com 50 mg.mL⁻¹ de extrato fenólico, formando halos de inibição de 19 a 22 mm, o que pode ser considerado um bom resultado quando comparado com os demais trabalhos citados.

Degáspari et al. (2005), demonstraram que o extrato alcoólico de frutos da *Schinus terebenthifolius* (aroeira-vermelha) inibe o *S. aureus* formando halos de inibição de 9 mm, entretanto o extrato aquoso não leva a nenhuma inibição. Lopes et al. (2006) relataram que o extrato etanólico dos frutos e das raízes da *Physalis angulata* (camapú) levam a inibição do *S. aureus* com halos de 11 mm e 7,8 mm, respectivamente. O *S. aureus* também é inibido pelo extrato etanólico da *Myrtus communis* L., formando halos de inibição de 12 mm (Salvagnini et al., 2008), e pelos extratos hidroalcoólicos de *Anacardium occidentale* L. (caju), que geram halos de 17 mm (Silva et al., 2007).

A concentração inibitória mínima dos extratos fenólicos da *Spirulina* para a inibição do *S. aureus* foi de 47,46 mg.mL⁻¹. Nas diluições realizadas no teste da CIM, houve uma elevação proporcional do crescimento bacteriano à medida que a concentração do extrato foi diminuída. Comparativamente, Michelin et al. (2005) não obtiveram inibição do *S. aureus* no teste da concentração inibitória mínima utilizando extratos de *M. pulegium* L., *Xanthosema violaceum* Schott e *S. cuminii* L. Sena-Filho et al. (2006) demonstraram que o extrato metanólico da *L. alba* M. inibe o *S. aureus* com uma concentração mínima maior que 2 mg.mL⁻¹. Serafin et al. (2007) explanaram que o extrato metanólico da *Plinia glomerata* (cabeludinha) inibe o *S. aureus* com CIM > 100 µg.mL⁻¹.

Kaushik & Chauhan (2008) relataram o potencial antimicrobiano de extratos obtidos a partir da microalga *S. platensis* frente a microrganismos como o *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, e *K. pneumoniae*. Os solventes utilizados para a obtenção dos extratos foram o hexano o etil acetato, o diclorometano e o metanol, sendo que o metanol foi o que apresentou os melhores resultados, sem efeito inibitório sobre a *K. pneumoniae*. As concentrações inibitórias mínimas (MIC) do extrato metanólico para o *S. aureus* e *E. coli* foram de 128 µg.mL⁻¹ e 256 µg.mL⁻¹, respectivamente.

Anteriormente, a comprovação da presença de compostos fenólicos na microalga *S. platensis* foi realizada por Colla et al. (2007b). Entretanto, o presente estudo é pioneiro na realização de testes antimicrobianos a partir de compostos fenólicos extraídos da *S. platensis*.

Os compostos fenólicos produzidos pela microalga

Spirulina apresentaram elevada atividade antimicrobiana frente a *S. aureus*, indicando o potencial que a microalga apresenta para a produção intracelular de compostos com atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

Assessment of the antibacterial activity of microalgae Spirulina platensis

Bacterial infections are aggravated by the increasing resistance of microorganisms to antimicrobial substances. The need to discover new medicines to evade microbial resistance is the driving force behind much new research. The microalga *Spirulina platensis*, recognized for its nutritional properties, has a high content of phenolic compounds, which can provide antimicrobial properties. The objective of this study was to establish a culture of *Spirulina platensis*, estimate the production of phenolic compounds by this microalga, characterize the antimicrobial activity of the phenolics against microorganisms such as *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomas aeruginosa* ATCC 27853 and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P and determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of the phenolic extract for these bacteria. It was found that adding high concentrations of sodium nitrate (4 g/L) to the medium did not increase the production of phenolic compounds. The microalgae grown with 2 g/L sodium nitrate produced 2.13 mg/g of phenolic compounds, and the extracts showed antibacterial activity against *S. aureus*, a Gram-positive bacterium, with inhibition haloes of 22 mm and 19 mm and a MIC of 47.46 mg/mL, indicating its importance as a potential *S. aureus* inhibitor.

Keywords: Antimicrobials. Phenolic compounds. *Spirulina platensis*.

REFERÊNCIAS

- Ambrosi MA, Reinehr CO, Bertolin TE, Costa JAV, Colla LM. Propriedades de saúde da microalga *Spirulina*. Rev Ciênc Farm Básica Apl. 2008; 29(2):109-17.
- Belay A. The Potential Application of *Spirulina* (*Arthrospira*) as a Nutritional and Therapeutic Supplement in Health Management. J Am Nutr Assoc (JANA) 2002; 5(2): 27-45.
- Caierão J, Antunes AG, Stefens M, Marco M, D'azevedo PA. Novos Antimicrobianos: realidade e perspectivas. NewsLab 2004; 66:80-90.
- Colla LM, Muccillo-Baisch AL, Costa JAV. *Spirulina platensis* Effects on the Levels of Total Cholesterol, HDL and Triacylglycerols in Rabbits Fed with a Hypercholesterolemic Diet. Braz Arch Biol Technol. 2008; 51(2):405-11.
- Colla LM, Furlong EB, Costa JAV. Antioxidant Properties of *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* Cultivated Under

- Different Temperatures and Nitrogen Regimes. *Braz Arch Biol Technol.* 2007a; 50(1):161-7.
- Colla LM, Reinehr CO, Reichert C, Costa JAV. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. *Bioresour Technol.* 2007b; 98:1489-93.
- Costa JAV, Colla LM, Duarte-Filho PF, Kabke K, Weber A. Modelling of *Spirulina platensis* growth in fresh water using response surface methodology. *J Microbiol Biotechnol.* 2002; 18(7): 603-7.
- Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol.* 1999; 12:564-82.
- Degáspari CH, Waszczyński N, Prado MRM. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebenthifolius* Raddi. *Ciênc Agrotec.* 2005; 29(3):617-22.
- Sena-Filho JG, Melo JGS, Saraiva AM, Gonçalves AM, Psiottano MNC, Xavier HS. Antimicrobial activity and phytochemical profile from the roots of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. *Rev Bras Farmacogn.* 2006; 16(4): 506-9.
- Kaushik P, Chauhan A. In vitro antibacterial activity of laboratory grown culture of *Spirulina platensis*. *Indian J Med Microbiol.* 2008; 48:348-52.
- Koneman EW, Allen SE, Janda WM, Schreckenberger PD, Winn WC. *Diagnóstico Microbiológico Texto y Atlas Color.* 5. ed. Buenos Ayres: Panamericana. 1999
- Lopes DCDXP, Freitas ZMF, Santos EP, Tomassini TCB. Atividades antimicrobiana e fototóxica de extratos de frutos e raízes de *Physalis angulata* L. *Rev Bras Farmacogn.* 2006, 16(2):206-10.
- Macedo RT, Alegre RM. Influência do teor de nitrogênio no cultivo de *Spirulina máxima* em dois níveis de temperatura – Parte II: Produção de lipídios. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2001; 21(2):183-6.
- Michelin DC, Moreschi PE, Lima AC, Nascimento GGF, Paganelli MO, Chaud MV. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. *Rev Bras Farmacogn.* 2005; 15(4):316-20.
- Miranda MS; Cintra RG, Barros SBM, Mancini-Filho J. Antioxidant activity of the microalga *Spirulina máxima*. *Braz J Med Biol Res.* 1998; 31:1075-9.
- Salvagnini LE, Oliveira JRS, Santos LE, Moreira RRD, Pietro RCLR. Avaliação da Atividade Antibacteriana de folhas de *Myrtus communis* L. (Myrtaceae). *Rev Bras Farmacogn.* 2008; 18(2):241-4.
- Serafin C, Nart V, Malheiros A, Bella Cruz A, Delle Monache F, Gette MA, Zacchino S, Cechinel-Filho V. Avaliação do potencial antimicrobiano de *Plinia glomerata* (Myrtaceae). *Rev Bras Farmacogn.* 2007; 17(4):578-82.
- Silva JG, Souza IA, Higino JS, Siqueira-Junior JP, Pereira JV, Pereira MSV. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. *Rev Bras Farmacogn.* 2007; 17(4):572-7.
- Torres-Duran PV, Ferreira-Hermosillo A, Juarez-Oropeza MA. Antihyperlipemic and antihypertensive effects of *Spirulina maxima* in an open sample of Mexican population: a preliminary report. *Lipids Health Dis.* 2007; 6:33.
- Tortora GJ, Funke BR, Case CL. *Microbiologia*, 8 ed. Porto Alegre: Artmed; 2005. p.559-84.
- Vonshak, A. *Spirulina platensis* (Arthrospira): physiology, cell-biology and biotechnology. London, Taylor & Francis; 1997.
- Yamane Y. The effect of *Spirulina* on nephrotoxicity in rats. [cited 2008 Jul 04] Available from: <http://www.spirulinasource.com/library-malnutrition.html>.
- Zarrouk, C. Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima*. Ph.D Thesis, Université de Paris, 1966.

