



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
SISTEMA DE BIBLIOTECAS DA UNICAMP
REPOSITÓRIO DA PRODUÇÃO CIENTÍFICA E INTELLECTUAL DA UNICAMP**

Versão do arquivo anexado / Version of attached file:

Versão do Editor / Published Version

Mais informações no site da editora / Further information on publisher's website:

https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722014000500010

DOI: 10.1590/1983-084X/12_053

Direitos autorais / Publisher's copyright statement:

©2014 by Fundação do Instituto de Biociências (FUNDIBIO). All rights reserved.

DIRETORIA DE TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO

Cidade Universitária Zeferino Vaz Barão Geraldo

CEP 13083-970 – Campinas SP

Fone: (19) 3521-6493

<http://www.repositorio.unicamp.br>

Atividade antibacteriana de Óleos Essenciais sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*

FREIRE, I.C.M.^{1*}; PÉREZ, A.L.A.L.¹; CARDOSO, A.M.R.¹; MARIZ, B.A.L.A.¹; ALMEIDA, L.F.D.¹; CAVALCANTI, Y.W.³; PADILHA, W.W.N.⁴

¹Universidade Federal da Paraíba, Campus Universitário, S/N, Cidade Universitária. CEP: 58.051-900 - João Pessoa, PB – Brasil. *icmf_jp@hotmail.com. ²Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Departamento de Prótese e Periodontia - Piracicaba-SP, Brasil. Av. Limeira, 901 Caixa Postal 52 - Piracicaba - SP CEP 13414-903. ³Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araraquara, Departamento de Dentística Restauradora, Araraquara-SP, Brasil. Rua Humaitá, 1680 – Araraquara - CEP:14801-903. ⁴Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Clínica e Odontologia Social. Campus Universitário, S/N, Cidade Universitária. CEP: 58.051-900 - João Pessoa, PB – Brasil

RESUMO: Este trabalho objetivou avaliar a ação antimicrobiana *in vitro* dos óleos essenciais de *Ocimum basilicum* (Manjerição Exótico), *Thymus vulgaris* (Tomilho Branco), e de *Cinnamomum cassia* (Canela da China) sobre cepas bacterianas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). A atividade antibacteriana dos óleos essenciais foi determinada pela Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) através da técnica de microdiluição e do esgotamento. Para a CIM, foram utilizadas placas de 96 poços e inseriu-se 100µL de caldo BHI, 100µL da diluição dos óleos essenciais no primeiro poço e 10µL da suspensão bacteriana ($1,5 \times 10^6$ microrganismos/mL). Realizou-se a diluição seriada partindo-se da concentração inicial de 8% até 0,0625%. A CIM correspondeu à última diluição na qual não foi verificada a presença de bactérias. Para obter a CBM, realizou-se a semeadura em Ágar Miller-Hinton das diluições correspondentes a CIM, 2CIM e 4CIM. As placas foram incubadas a 37° C em estufa bacteriológica por 24 horas. Os testes foram realizados em triplicata tendo a clorexidina como controle positivo. Para *S. aureus* (ATCC 25923) a CIM e CBM dos óleos essenciais de *C. cassia*, *O. basilicum* e *T. vulgaris* foram 0,0625%, 4% e 0,0625%, respectivamente. Para *S. mutans* a CIM e a CBM dos óleos essenciais de *C. cassia* e *T. vulgaris* foram 0,125% e 0,25%, respectivamente. Já a CIM do *O. basilicum* foi 4% e não apresentou ação bactericida. Conclui-se que os óleos essenciais avaliados apresentaram ação antibacteriana frente a cepas de *S. mutans* e *S. aureus*, sendo que os menores valores de CIM e de CBM foram provenientes dos óleos de *C. cassia* e *T. vulgaris*.

Palavras-chave: *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, Microbiologia.

ABSTRACT: Antibacterial Activity of Essential Oils against Strains of *Streptococcus* and *Staphylococcus*: The aim of this study is to evaluate the *in vitro* antimicrobial activity of essential oils of *Ocimum basilicum* (basil), *Thymus vulgaris* (thyme) and *Cinnamomum cassia* (Chinese cinnamon) against strains of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). The antibacterial activity of the essential oils was determined by Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). The MIC was obtained by the microdilution technique using 96-well microplates, in which we inserted: 100µL of Brain Heart Infusion broth at double concentration, 100µL of the dilution of the essential oils and 10µL of bacterial suspension (1.5×10^6 organisms / mL). The products were diluted from the initial concentration of 8% up to 0.0625%. The MIC corresponded to the last dilution in which there was no presence of bacteria or turbidity in the culture medium. The MBC was obtained by seeding, in Mueller-Hinton agar, 10µL aliquots of dilutions corresponding to the MIC and the two immediately preceding ones (2MIC and 4MIC). The plates were incubated at 37°C in a bacteriological incubator for 24 hours. The tests were performed in triplicate, and 2% Chlorhexidine Digluconate was the control product. For *S. aureus*, the MIC and MBC of the essential oils of *C. cassia*, *O. basilicum* and *T. vulgaris* were 0.0625%, 0.0625% and 4%, respectively. For *S. mutans*, the MIC and MBC of the essential oils of *C. cassia* and *T. vulgaris*

were 0.125% and 0.25%, respectively. The MIC of *O. basilicum* against *S. mutans* was 4% and the essential oil showed no bactericidal action. Chlorhexidine Digluconate presented antibacterial activity against all organisms. The evaluated essential oils presented antibacterial activity against the strains of *S. mutans* and *S. aureus*, and we highlight the essential oils from *C. cassia* and *T. vulgaris* with the lowest MIC and MBC.

Keywords: *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, Microbiology, Antimicrobial agents/inhibitors.

INTRODUÇÃO

As plantas medicinais estão sendo cada vez mais utilizadas para o tratamento de doenças, a fim de diminuir as desvantagens trazidas pelo uso crônico de antimicrobianos, tal como a resistência desses microorganismos diante de substâncias sintéticas (Costa *et al.*, 2009). Diversas plantas e óleos essenciais têm sido avaliados quanto à ação antimicrobiana, estando entre eles o *Ocimum basilicum* (Manjeriço Exótico), *Thymus vulgaris* (Tomilho Branco) (Duarte, 2006) e *Cinnamomum cassia* (Canela da China).

O manjeriço é uma planta medicinal pertencente à família *Lamiaceae* e tornou-se importante na sociedade por apresentar utilização na cosmética, na alimentação e, devido as suas propriedades terapêuticas, na indústria farmacêutica (Costa *et al.*, 2009). Martins *et al.*, (2010) relataram que a atividade antimicrobiana do óleo essencial de manjeriço está associada a seus constituintes metil chavicol e linalol, sendo assim, amplamente utilizado na medicina popular no combate às infecções bacterianas.

O Tomilho, também utilizado indústria alimentícia, apresenta significativo potencial antimicrobiano devido à presença de seu constituinte Timol (Pozzo *et al.*, 2011). Já o *Cinnamomum cassia* (canela) possui atividade antimicrobiana devido à presença do aldeído cinâmico (Souza *et al.*, 2010).

Os óleos essenciais de produtos naturais consistem na forma de apresentação que concentra a maior quantidade de fitoconstituintes com propriedades biológicas ativas (Pozzatti *et al.*, 2009). Uma vez que esses produtos são de fácil acesso à população, vislumbra-se a possibilidade de futura aplicação clínica. Assim, o seu uso deve ser embasado pela literatura científica.

Os microrganismos *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus* adquirem relevância na área da saúde por estarem associados com o desenvolvimento de diversas infecções. Assim, o uso de produtos naturais para contribuir para obtenção de novas ferramentas terapêuticas. Nesse sentido, o objetivo do presente estudo foi avaliar a ação antimicrobiana *in vitro* dos óleos essenciais de *Ocimum basilicum*, *Thymus vulgaris* e *Cinnamomum cassia* sobre cepas bacterianas de *S. mutans* (ATCC 25175) e *S. aureus* (ATCC 25923).

MATERIAL E MÉTODO

Realizou-se um estudo de abordagem indutiva, com procedimento comparativo descritivo e técnica de documentação direta em laboratório (Lakatos & Marconi, 2009).

As cepas de referência utilizadas no estudo foram *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Os microrganismos foram obtidos do Laboratório de Materiais de Referência do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, Rio de Janeiro - RJ, Brasil). As cepas foram reativadas em caldo BHI a 37° C no Laboratório de Microbiologia Oral - Núcleo de Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba. Para a condução do estudo, suspensões dos microrganismos foram preparadas em solução salina, sob a concentração $1,5 \times 10^6$ microrganismos/mL, equivalente ao tubo 0,5 da Escala de MacFarland.

Para avaliação antimicrobiana *in vitro*, foram utilizados óleos essenciais de *Ocimum basilicum* (Manjeriço Exótico), *Thymus vulgaris* (Tomilho Branco) e *Cinnamomum cassia* (Canela da China), obtidos da empresa Ferquima® (Ind. e Com. Ltda) e da Empresa Viessence® (Florianópolis-SC, Brasil), as quais cederam Laudo Técnico com especificações (Quadro 1). Os óleos essenciais utilizados no presente estudo tem sua produção padronizada e com possibilidade de fácil acesso da população, o que justifica a sua utilização. A partir desses produtos, componentes bioativos podem ser identificados diante da sua atividade biológica. A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais foi avaliada pela determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), por meio da técnica da microdiluição e pela determinação da Concentração Bactericida Mínima, através da semeadura em placas de petri. Considerou-se a densidade das substâncias igual a 0,9 g/mL, conforme especificações do fornecedor (Quadro 1). Os óleos essenciais foram diluídos em água destilada estéril, obtendo-se a concentração 16% considerada a solução-padrão inicial para todos os produtos avaliados. Para obtenção dessa concentração da solução-padrão inicial foram realizadas as seguintes

etapas descrita por Aligiannis *et al.* (2001) e Lima *et al.* (2006): foram adicionados, em tubos de vidro estéril, 0,8 mL do óleo essencial, 0,05 mL de Tween 80 e 4,2 mL de água destilada estéril; o conjunto foi agitado durante 5 minutos em aparelho agitador de soluções tipo Vortex (Mod. AP56, Phoenix), a fim de obter a concentração inicial de 16%, equivalente a 144 mg/mL. A utilização de Tween 80 foi efetiva para solubilização dos óleos essenciais em água, sem no entanto interferir na atividade biológica desses produtos, conforme verificado em estudos preliminares. Para avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), as soluções-padrão iniciais dos óleos essenciais foram diluídas de forma seriada, mediante emprego da técnica da microdiluição em placa de 96 poços (Aligiannis *et al.*, 2011).

A determinação da CIM foi realizada em placas de microdiluição com 96 poços (ALAMAR®, Diadema, São Paulo, Brasil), dispostos em 12 colunas (1 a 12) e 8 linhas (A a H). Cada uma dessas placas destinou-se a análise de um microrganismo. As colunas 1, 2 e 3 foram destinadas a análise da ação antibacteriana do óleo essencial de *Cinnamomum cassia*; as colunas 4, 5, e 6 ao óleo essencial de *Ocimum basilicum*; e as colunas 7, 8 e 9, ao óleo essencial de *Thymus vulgaris*. A coluna 10 foi destinada ao Controle de Esterilidade; a coluna 11 ao Controle de Crescimento; e a coluna 12 ao Controle positivo (Clorexidina).

Em cada um dos poços das placas de microdiluição foram inseridos 100µL de caldo BHI duplamente concentrado. Em seguida, inseriu-se 100µL das emulsões dos óleos essenciais para obtenção da concentração inicial de 8% (72,0 mg/mL) na primeira linha da placa de microdiluição. As concentrações subsequentes dos óleos essenciais foram obtidas após diluição seriada dos produtos naturais na placa de microdiluição, partindo-se da concentração inicial de 8% (72 mg/mL - Linha A) até 0,0625% (Linha H), pela transferência de 100µL do conteúdo ao poço subsequente. Para os poços da linha H, foram dispensados 100µL do conteúdo, de modo a igualar o volume total de cada poço. As concentrações (em mg/mL) dos produtos analisados após a diluição seriada são apresentadas no Quadro 02.

Posteriormente, foram inseridos 10 µL da

QUADRO 2. Diluições Seriadas dos Óleos Essenciais para técnica de avaliação antimicrobiana por microdiluição

Poços	Concentração (mg/mL)
1 – A	72 mg/mL
2 – B	36 mg/mL
3 – C	18 mg/mL
4 – D	9 mg/mL
5 – E	4,5 mg/mL
6 – F	2,25 mg/mL
7 – G	1,125 mg/mL
8 – H	0,5625 mg/mL

suspensão dos microrganismos ($1,5 \times 10^7$ UFC/mL) em todos os poços, exceto na coluna correspondente ao controle de esterilidade**. Buscou-se, dessa forma, submeter todas as concentrações de produtos naturais avaliadas à mesma quantidade de microrganismos. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°, por 48 horas. A CIM correspondeu à última diluição dos óleos essenciais na qual não foi verificada a presença de precipitado microbiano ou turvação no meio de cultura após o período de incubação.

A Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi obtida por meio da semeadura, em Agar Mueller-Hinton, de alíquotas de 10µL das diluições correspondentes a CIM e duas imediatamente anteriores (2CIM e 4CIM) dos conteúdos dos poços das placas de microdiluição**. Essas concentrações imediatamente superiores a CIM são suficientes para demonstrar o efeito bactericida dos produtos naturais, visto que o efeito bacteriostático foi determinado pela ausência de crescimento nos poços da placa de microdiluição (Pozzatti *et al.*, 2009). Após a semeadura, as placas de petri foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°, por 24h. A CBM foi considerada a menor concentração que impediu o crescimento visível das bactérias ou permitiu a formação de até três Unidades Formadoras de Colônia (UFC). Assim, as concentrações em que se verificou a formação de mais de três UFC foram consideradas inibitórias ao crescimento bacteriano (CBM); enquanto as concentrações na qual se observou nulidade de crescimento ou menos de 3 UFC, foram consideradas bactericidas (Pozzatti *et al.*, 2009). Todos os testes foram realizados em triplicata.

RESULTADOS

QUADRO 1. Especificações técnicas dos óleos essenciais utilizados no estudo, segundo laudo técnico expedido por fornecedor.

Óleo essencial	Densidade (g.mL ⁻¹ ,20°C)	Origem	Fitoconstituintes
<i>Cinnamomum cassia</i> (Canela da China)	0,912	China	Aldeído cinâmico
<i>Ocimum basilicum</i> (Manjeriço)	0,898	Brasil	Linalol 1,8- cineol
<i>Thymus vulgaris</i> (Tomilho)	0,908	França	Timol p-cimeno

Os valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos produtos testados sobre as cepas de *S. mutans* e *S. aureus* estão apresentados, respectivamente, no Quadro 3 e Quadro 4. Não houve crescimento bacteriano no Controle de Esterilidade e Controle Positivo (Clorexidina), sendo este observado no Controle de Crescimento.

DISCUSSÃO

Diversos estudos mostram que os óleos essenciais apresentam efeito bactericida e bacteriostático contra variadas espécies de bactérias (Aquino *et al.*, 2010; Costa *et al.*, 2009; Freires *et al.*, 2010; Martins *et al.*, 2010), entretanto, há pouco relato quanto à ação dos óleos essenciais de *Cinnamomum cassia*, *Ocimum basilicum* e *Thymus vulgaris* sobre cepas de *S. aureus* e *S. mutans*. Almeida *et al.*, 2012 mostrou o efeito desses produtos sobre *Candida*.

Os valores de CIM e CBM verificados no presente estudo demonstram que os produtos naturais avaliados apresentam propriedades biológicas ativas frente a inibição *S. mutans* e *S. aureus*. Conforme discutido por Menezes *et al.* (2009), produtos naturais apresentam atividade antimicrobiana adequada quando sua concentração inibitória é inferior a 100 mg/mL. No presente estudo, a CIM e CBM dos óleos essenciais *C. cassia* e *T. vulgaris* apresentou valores muito baixos, o que indica elevada atividade antimicrobiana e corrobora o resultado de outros estudos (Almeida *et al.*, 2012).

O Controle Positivo (Clorexidina), o Controle

de Esterilidade e o Controle de Crescimento foram empregados de modo a validar a técnica utilizada neste estudo (Cavalcanti *et al.*, 2010). A ausência de crescimento fúngico diante da Clorexidina demonstra a susceptibilidade das cepas frente a um antimicrobiano sintético. Dessa forma, ao considerar as diferenças entre a natureza química dos óleos essenciais e do Controle Positivo, não foi possível comparar os resultados obtidos por essas substâncias (Cavalcanti *et al.*, 2010).

Costa *et al.*, (2009), avaliaram a ação antimicrobiana do óleo essencial de *Ocimum basilicum*, o qual mostrou-se ativo sobre cepas bacterianas até a concentração de 2%, diferindo do nosso estudo, em que mostrou-se ativo sobre cepas até 4%, porém, em ambos os casos, verificou-se atividade bactericida e bacteriostática do produto. Aquino *et al.*, verificou a atividade do óleo *Ocimum basilicum* contra 8 cepas diferentes de *S. aureus* e, em todas, o óleo apresentou ação bactericida e bacteriostática. Dentre elas, 5 foram inibidas e mortas com CIMs e CBMs de 3,12 e 6,25 µg/mL, respectivamente, sendo esses menores que os dados encontrados em nosso estudo.

Machado *et al.*, 2011, afirmaram que a linhagem ATCC 25923 de *S. aureus* possui alta suscetibilidade a diversos óleos essenciais, estando entre eles o *Cinnamomum cassia* e que, na técnica de Halos de Inibição, apresentou um halo de 15,5 mm. Apesar da metodologia diferente, pode ser comparado a esta pesquisa quanto à presença ou ausência da atividade antibacteriana, mostrando que o óleo essencial de canela foi eficaz contra o *S. aureus*. Não encontramos relato na literatura quanto

QUADRO 3. Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) em mg/mL dos óleos essenciais de *Ocimum basilicum*, *Thymus vulgaris* e *Cinnamomum cassia* frente à cepas de *S. mutans* e *S. aureus*.

Óleo Essencial	Microorganismos	
	<i>S. mutans</i>	<i>S. aureus</i>
	CIM mg/mL	CIM mg/mL
Cinnamomum cassia	1,125	0,5625
Ocimum basilicum	36,0	36,0
Thymus vulgaris	2,25	0,5625

QUADRO 4. Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos óleos essenciais de *Ocimum basilicum*, *Thymus vulgaris* e *Cinnamomum cassia* frente à cepas de *S. mutans* e *S. aureus*.

Óleo Essencial	Microorganismos	
	<i>S. mutans</i>	<i>S. aureus</i>
	CBM mg/mL	CBM mg/mL
Cinnamomum cassia	1,125	0,5625
Ocimum basilicum	Sem ação	36,0
Thymus vulgaris	2,25	0,5625

à ação antibacteriana dos óleos *Cinnamomum cassia* e *Ocimum basilicum* sobre *S. mutans*.

Santos *et al.* (2007), avaliaram o óleo essencial de *Thymus vulgaris* através das técnicas de Concentração Inibitória Mínima e de Halos de Inibição e verificaram que este apresentou atividade considerável frente ao *S. mutans*, apresentando halos de inibição variando de 2 a 30 mm e CIM de 100µg/mL, sendo uma concentração maior comparada ao nosso estudo. Segundo Santos-Junior (2010), o tomilho possui atividade frente ao *S. aureus* apresentando Concentração Inibitória Mínima de 0,39%.

Apesar dos poucos relatos encontrados, o presente estudo corrobora os achados da literatura quanto à atividade inibitória dos óleos essenciais sobre *S. aureus*. No entanto não encontramos dados dos óleos *Cinnamomum cassia* e *Ocimum basilicum* sobre *S. mutans*. Diante dos resultados do nosso estudo quanto à ação antibacteriana, surgem possibilidades de utilizar os óleos essenciais de *Cinnamomum cassia*, *Ocimum basilicum* e *Thymus vulgaris* como agentes antimicrobianos.

CONCLUSÃO

Os óleos essenciais avaliados apresentaram ação antibacteriana frente a cepas de *S. mutans* e *S. aureus*, apresentando os menores valores de CIM e CBM os óleos *C. cassia* e *T. vulgaris*.

REFERÊNCIA

- ALIGIANNIS, N.; KALPOUTZAKIS, E.; MITAKU, S.; CHINO, J.B. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two Origanum Species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, n.9, p.4168-67, 2001.
- ALMEIDA, L. F. D.; CAVALCANTI, Y. W.; CASTRO, R. D.; LIMA, E. O. Atividade antifúngica de óleos essenciais frente amostras clínicas de *Candida albicans* isoladas de pacientes HIV positivos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais (Impresso)**, v. 14, p. 649-655, 2012
- AQUINO, L.C.L.; SANTOS, G.G.; TRINDADE, R.C.; ALVES, J.A.B.; SANTOS, P.O.; ALVES, P.B.; BLANK, A.F.; CARVALHO, L.M. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de erva-cidreira e manjeriço frente a bactérias de carnes bovinas. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.21, n.4, p.529-535, 2010.
- BERALDO CC, ANDRADE D. Higiene bucal com clorexidina na prevenção de pneumonia associada à ventilação mecânica. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v.34, n.9, p.707-714, 2008.
- CAVALCANTI, Y.W.; ALMEIDA, L.F.D.; PADILHA, W.W.N. Atividade antifúngica de três Óleos Essenciais sobre cepas de *Candida*. **Revista Odontológica do Brasil Central**, v.20, n.52, p.77-82, 2011
- COSTA, C.M.G.R.; SANTOS, M.S.; BARROS, H.M.M.; AGRA, P.F.M.; FARIAS, M.A.A. Efeito inibitório do óleo essencial de manjeriço sobre o crescimento in vitro de *Erwinia carotovora*. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.3, n.3, p.35-38, 2009.
- DUARTE, M.C.T. **Atividade Antimicrobiana de Plantas Mediciniais e Aromáticas Utilizadas no Brasil**. Disponível em: <http://www.multiciencia.unicamp.br/artigos_07/a_05_7.pdf>. Acesso em: 01 de maio de 2012.
- FREIRES, I.A.; ALVES, L.A.; JOVITO, V.C.; ALMEIDA, L.F.D.; CASTRO, R.D.; PADILHA, W.W.N. Atividades antibacteriana e antiaderente in vitro de tinturas de *Schinus terebinthifolius* (Aroeira) e *Solidago microglossa* (Arnica) frente a bactérias formadoras do biofilme dentário. **Odontologia Clínica Científica**, v. 9, n.2, p.139-43, 2010.
- LEITE GB. **ANÁLISE DE PORTADORES ASSINTOMÁTICOS DE Staphylococcus aureus NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA**, 2008. 101p. [Dissertação de mestrado]. Universidade de Brasília. Faculdade de Medicina, Brasília.
- LIMA, I.O.; OLIVEIRA, R.A.G.; LIMA, E.O.; FARIAS N.M.P.; SOUZA, E.L. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.2, p.197-201, 2006.
- MACHADO, T.M.F.B.; BARBOSA, L.N.; PROBST, I.S.; FERNANDES JUNIOR, A. **Ação antimicrobiana de óleos essenciais de uso em terapias naturais**. 2011. 111p. [Dissertação de mestrado]. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, São Paulo.
- MARTINS, A.G.L.A.; NASCIMENTO, A.R.; MOUCHREK FILHO, J.E.; MENDES FILHO, N.E.; SOUZA, A.G.; ARAGÃO, N.E.; SILVA, D.S.V. Atividade antibacteriana do óleo essencial do manjeriço frente a sorogrupos de *Escherichia coli* enteropatogênica isolados de alfaces. **Ciência Rural**, v.40, n.8, p.1791-1796, 2010.
- MENEZES, T.O.A.; ALVES A.C.B.A.; VIEIRA, J.M.S.; MENEZES, S.A.E.; ALVES, B.P.; MENDONÇA, L.C.V. Avaliação in vitro da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de *Candida albicans*. **Ver Odontol UNESP**, v.38, p.184-191, 2009.
- POZZO, M.D.; VIÉGAS, J.; SANTURIO, D.F.; ROSSATO, L.; SOARES, I.H.; ALVES, S.H.; COSTA, M.T. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a *Staphylococcus spp* isolados de mastite caprina. **Ciência Rural**, v.41, n.4, p.667-672, 2011.
- SANTOS-JÚNIOR, A.C.; SALIMENA, A.P.S.; MILLEZI, A.F.; PICCOLI, R.H. Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro de óleos essenciais sobre *Staphylococcus aureus*. In: **Anais da III Mostra Científica da ANPG**, 2010, Rio de Janeiro.
- SANTOS, R.S.I.; PEREIRA, D.F.A.; TEODORO, G.R.; CANETTIREI, A.C.V.; KHOURI, S.; SALVADOR, M.J. Avaliação da atividade antibacteriana e determinação da CIM do óleo essencial de *Thymus vulgaris* sobre *Streptococcus mutans* e caracterização química do óleo por cromatografia gasosa. In: **XI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação** – Universidade do Vale do Paraíba, 2007, São Paulo.
- SARTORATTO, A.; MACHADO, A.L.M.; DELARMELENA,

- C.; FIGUEIRA, G.M.; DUARTE, M.C.T.; REHDER, V.L.G.; Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.35, p.275-280, 2004.
- SOARES, D.G.S.; OLIVEIRA, C.B.; LEAL, C.D.; MILANA, R.S.; PADILHA, W.W.N. Susceptibilidade *in vitro* de bactérias bucais a tinturas fitoterápicas. **Revista Odonto Ciência**, v. 21, n. 53, p.232-237, 2006
- SOUZA, A.D.Z.; VARGAS, N.R.C.; MENDIETA, M.C.; HECK, R.M.; CEOLIN, T. Plantas medicinais utilizadas para cólicas menstruais: um desafio para a enfermagem. In: **XIX CIC/II Mostra Científica**, Pelotas-RS, 2010.
- POZZATTI, P.; LORETO, E.S.; LOPES, P.G.M.; ATHAYDE, M.L.; SANTURIO, J.M.; ALVES, S.H.; Comparison of the susceptibilities of clinical isolates of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to essential oils. **Mycoses**. 2009;53(1):12-5.