

## ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS EXTRAÍDOS DE CONDIMENTOS

### *Antimicrobial activity of essential oils extracted from condiments*

Patrícia Pozzatti<sup>1</sup>, Liz Girardi Müller<sup>2</sup>, Tatiana Borba Spader<sup>2</sup>, Sydney Hartz Alves<sup>3</sup>

#### RESUMO

Atualmente, grande número de microrganismos patogênicos ao homem e animais evidencia preocupante perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos disponíveis no mercado, demonstrando alarmantes percentuais de resistência, principalmente no ambiente hospitalar. O impacto da resistência é crítico quando as opções terapêuticas restringem-se a poucas drogas ou as opções são nulas. A indústria químico-farmacêutica busca soluções inovadoras e, neste contexto, metabólitos vegetais, tradicionalmente utilizados na alimentação humana ou na medicina popular, revestem-se de importância, cujos potenciais antimicrobianos requerem avaliações. Desta forma, a presente revisão objetivou ressaltar as atividades antimicrobianas de alguns óleos essenciais extraídos de condimentos popularmente utilizados.

Palavras-chave: óleos essenciais, condimentos, atividade antimicrobiana

#### SUMMARY

Currently, a large number of microorganisms that are pathogenic to men and animals evidence a concerning susceptibility profile to available antimicrobial agents, showing alarming percentages of resistance, mainly in the hospital environment. Resistance impact is a critical point when therapeutic options are restricted to few drugs or other options are null. The chemical-pharmaceutical industry searches for innovative solutions and, in this context, plant metabolites, traditionally used in human feeding as well as in the popular medicine, arms itself with importance, whose potentials require evaluations. Therefore, the present review had as a purpose standing out antimicrobial activities of some essential oils extracted from popularly used condiments.

Key-words: essential oils, condiments, antimicrobial activity

#### INTRODUÇÃO

Os vegetais têm ampla habilidade em sintetizar substâncias odoríferas, das quais a maioria são terpenóides, fenóis ou seus derivados oxigenados. Geralmente estes compostos são metabólitos secundários que servem como mecanismo de defesa para a planta contra ataques por microrganismos e herbívoros, além de atraírem insetos visando à polinização. Muitos constituintes vegetais originam o seu aroma, e algumas ervas e condimentos, historicamente utilizados em culinária, podem também ser empregados no campo da medicina<sup>1</sup>. Os óleos essenciais têm sido usados com amplas finalidades por muitos séculos; nas

últimas décadas, numerosos estudos *in vitro* e *in vivo* foram realizados avaliando suas atividades antibacterianas e antifúngicas<sup>2</sup>.

Óleos essenciais, conforme a ISO 9235:1997 (International Standard Organization)<sup>4</sup>, são produtos obtidos de partes de plantas através de destilação por arraste com vapor d'água, bem como os produtos obtidos por processamento mecânico dos pericarpos de frutos cítricos (Rutaceae). De modo geral, podem ser conceituados como misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente líquidas e odoríferas<sup>3</sup>.

Em sua grande maioria, os óleos essenciais consistem de misturas de hidrocarbonetos (monoterpenos, sesquiterpenos, entre outros) e compostos oxigenados (álcoois, ésteres, éteres, aldeídos,

Trabalho realizado no Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

<sup>1</sup>Farmacêutica; Mestranda em Ciências Farmacêuticas.

<sup>2</sup>Acadêmica do Curso de Farmácia da UFSM.

<sup>3</sup>Professor Doutor do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFSM.

etonas, lactonas, fenóis, éteres fenólicos, etc.). Quimicamente, estes compostos pertencem à classe dos terpenóides, originados a partir do ácido mevalônico, ou dos fenilpropanóides, provindos do ácido chiquímico<sup>3,5</sup>. Os terpenóides constituem-se como os principais constituintes químicos responsáveis pela utilização das plantas odoríferas em medicina, em aplicações químico-farmacêuticas e na culinária<sup>6</sup>.

Atualmente, grande número de microrganismos patogênicos ao homem e animais evidencia preocupante perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos existentes, demonstrando alarmantes percentuais de resistência, sobretudo no ambiente hospitalar. O impacto da resistência é crítico quando as opções terapêuticas restringem-se a poucas drogas ou as opções são nulas. A indústria químico-farmacêutica busca soluções inovadoras e, neste contexto, metabólitos vegetais, tradicionalmente utilizados na alimentação humana ou na medicina popular, revestem-se de importância, cujos potenciais requerem avaliações. No Brasil, a medicina popular emprega plantas medicinais e/ou fitofármacos no tratamento de doenças tais como esquistossomose, leishmaniose, malária e infecções bacterianas e fúngicas<sup>7</sup>.

#### ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Alguns extratos de plantas e seus metabólitos secundários possuem efeitos inibitórios e letais dose-dependente sobre microrganismos tais como bactérias, fungos, vírus e protozoários<sup>8</sup>.

Diversos óleos voláteis são conhecidos por possuírem propriedades antifúngicas e, desta forma, são potencialmente aplicáveis como agentes antimicóticos. Estudando a eficácia de óleos essenciais contra diferentes fungos patogênicos, Tampieri et al<sup>2</sup> determinaram a atividade *in vitro* de 16 óleos essenciais e seus componentes principais frente a isolados de *Candida albicans*. Os resultados dos constituintes puros dos óleos mostraram que o beta-felandreno foi o composto mais ativo entre os hidrocarbonetos monoterpênicos cíclicos; entre os fenóis foi o carvacrol; entre os álcoois de cadeia aberta, o mais ativo foi 1-decanol e, entre os aldeídos, o de maior atividade foi o trans-cinamaldeído. Entre outras conclusões, foi observado que óleos essenciais que possuem carvacrol, composto fenólico presente nos óleos de orégano (*Origanum vulgare*), orégano mexicano (*Lippia graveolens*) e tomilho (*Thymus vulgaris*), são ativos contra *C. albicans*.

Chami et al<sup>9</sup> estudaram *in vivo* a ação terapêutica do carvacrol e do eugenol no tratamento de candidíase oral causada por *C. albicans* em ratos imunodeprimidos. Nesta pesquisa, os autores comprovaram a intensa atividade antifúngica do carvacrol e eugenol.

Burt et al<sup>10</sup> observaram que os óleos essenciais de orégano e tomilho possuem significativa atividade bacteriostática e bactericida contra *E. coli* O157:H7, importante patógeno com atividade enterohemorrágica ao homem.

Recentes estudos têm evidenciado que os óleos essenciais de orégano, tomilho e cravo possuem forte atividade frente a isolados de *E. coli*<sup>6,8,11</sup>. As análises químicas destes óleos têm apontado como constituintes majoritários o carvacrol, timol, citral, eugenol, entre outros<sup>12,13,14,15</sup>; todavia, a composição dos óleos essenciais de cada espécie em particular pode variar em virtude da época da colheita da planta, condições climáticas e diferenças geográficas<sup>3,16</sup>, o que propicia alterações na atividade antimicrobiana do óleo.

Investigando o efeito inibitório de 45 óleos essenciais sobre 8 gêneros de bactérias, incluindo Gram-positivas (*Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*) e Gram-negativas (*Alcaligenes faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), Chao et al<sup>17</sup> concluíram que bactérias Gram-negativas evidenciaram menor suscetibilidade aos óleos essenciais do que as Gram-positivas. Entretanto, alguns dos óleos estudados, como óleo da casca da canela (*Cinnamomum zeylanicum*), foram efetivos contra ambos os grupos bacterianos.

As bactérias evidenciam enorme facilidade em desenvolver resistência a antibacterianos e a agentes anti-sépticos em geral. Uma das bactérias mais difíceis de serem tratadas e erradicadas dos ambientes hospitalares é o *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (MRSA). Nostro et al<sup>18</sup> realizaram um estudo sobre a atividade do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) e seus principais componentes, carvacrol e timol, frente a *Staphylococcus* spp. resistentes e sensíveis a metilicina. Foi observado que todos os isolados de *S. aureus* e *S. epidermidis* foram suscetíveis ao óleo de orégano e seus principais constituintes carvacrol e timol; não foram constatadas diferenças estatísticas entre a suscetibilidade das cepas resistentes e sensíveis a metilicina. Disto, depreende-se que o óleo de orégano tem significativo potencial para ser usado como agente antibacteriano de uso tópico contra espécies de *Staphylococcus* resistentes a metilicina.

Os óleos essenciais de orégano e tomilho também demonstram forte atividade contra *Enterococcus faecium* ATCC 10541, e moderada atividade contra *Salmonella choleraesuis*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*<sup>19</sup>.

O óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) é amplamente empregado por suas ações anti-séptica, expectorante, antiespasmódica, carminativa e flavorizante. Suas propriedades estão relacionadas com o elevado teor de timol e seu isômero de posição carvacrol, que perfazem 40 a 50% do óleo. Estes

componentes apresentam atividades antibacteriana e antifúngica superiores ao fenol e, ao mesmo tempo, menor toxicidade do que este<sup>3</sup>. Pina-Vaz et al<sup>20</sup> avaliaram a atividade antifúngica do óleo essencial de tomilho e concluíram que este possui ação antifúngica potente contra *Candida* spp.; isto sinaliza a necessidade de futuros ensaios *in vivo* voltados ao tratamento da candidíase mucocutânea.

O orégano (*Origanum vulgare*) atua como tônico geral, digestivo, espasmolítico, carminativo, expectorante, anti-séptico das vias respiratórias e emenagogo; topicamente é analgésico, cicatrizante, anti-séptico e antifúngico. Seu óleo essencial é rico em carvacrol, timol e terpineol<sup>21</sup>. Manohar et al<sup>22</sup> avaliaram a atividade antifúngica do óleo essencial de orégano, demonstrando que este óleo tem efeito fungicida contra *C. albicans* e que o mesmo inibe a formação de tubo germinativo desta levedura, estrutura que se correlaciona com a capacidade desta espécie em invadir tecidos.

*Lippia graveolens*, popularmente denominada orégano mexicano, é um vegetal utilizado como condimento, mas está documentado unicamente na Farmacopéia Mexicana. Estudos antibacterianos demonstram que a tintura de *L. graveolens* é ativa contra *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *S. flexneri*, *S. aureus*, *S. pneumoniae* e *S. pyogenes*<sup>21</sup>. Ensaio de atividade antifúngica demonstram que seus extratos diclorometânico e etanólico são ativos contra *C. albicans*, *Aspergillus flavus*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporium gypseum* e *Trichophyton rubrum*, e são inativos contra *Cryptococcus neoformans*<sup>21</sup>. A composição e atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Lippia graveolens* coletada na Guatemala foram estudados e caracterizados por seu alto conteúdo de monoterpenóides (70,0 a 87,2%). Importantes diferenças entre os constituintes majoritários foram encontradas, particularmente para carvacrol (0,2 a 44,8%), timol (7,4 a 18,1%) e p-cimeno (6,8 a 21,8%). Todos os óleos demonstraram significativa atividade contra todas as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas testadas, bem como contra os fungos. Contudo, óleos com maior conteúdo de carvacrol do que de timol, demonstraram maior atividade antimicrobiana<sup>23</sup>.

O manjerição (*Ocimum basilicum*) é uma erva odorífera de largo emprego em culinária e em medicina popular. Possui ação antiespasmódica, antitérmica e digestiva, além de ser efetivo contra infecções bacterianas e parasitas intestinais. Seu óleo essencial é composto principalmente por timol, metil-chavicol, linalol, eugenol e cineol<sup>24</sup>. O mesmo é ativo contra bactérias como *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *S. aureus*, e alguns fungos, incluindo: *C. albicans*, *A. flavus*, *C. neoformans*, *H. capsulatum*, *M. canis*, *M. gypseum*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum*<sup>21</sup>.

A sálvia (*Salvia officinalis*) é empregada na forma de infusão para tratar afecções gastrointestinais, respiratórias, renais,

hepáticas e nervosas. A esta planta atribui-se propriedades antioxidante, anti-séptica, adstringente, carminativa, cicatrizante, desinfetante, hemostática, entre outras<sup>21</sup>. Seu óleo essencial é rico em terpenóides como tujona, cineol, cânfora, borneol, ácido ursólico<sup>24</sup>. A atividade antibacteriana de óleos essenciais extraídos das plantas medicinais *Salvia officinalis*, *Ocimum gratissimum* e *Cymbopogon citratus* foi avaliada frente a patógenos isolados do trato urinário. *S. officinalis* mostrou destacada atividade inibitória quando comparada às outras duas espécies vegetais, com 100% de eficiência sobre *Klebsiella* spp. e *Enterobacter* spp., 96% contra *Escherichia coli*, 83% contra *Proteus mirabilis*, e 75% frente a *Morganella morganii*<sup>25</sup>.

O alecrim (*Rosmarinus officinalis*) é utilizado popularmente no tratamento de amigdalites, anemias, bronquite, cefaléia, cólicas, indigestão, náusea, entre outros<sup>21</sup>. Seu óleo essencial pode ser usado como conservante na indústria de alimentos e de cosméticos devido às suas amplas atividades antimicrobianas. Mangena et al<sup>26</sup>, pesquisaram sobre esta atividade, observando que *Acinetobacter lwoffii*, *Shigella flexneri*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterobacter aerogenes*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *B. subtilis*, *Erwinia carotovora*, *S. aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella enteritidis* e *S. typhi* apresentam-se suscetíveis ao óleo essencial de alecrim, enquanto que *Pseudomonas aeruginosa* e *P. fluorescens* não demonstraram sensibilidade ao mesmo. Em geral, bactérias Gram-positivas mostraram-se mais sensíveis ao óleo do que as Gram-negativas. Santoyo et al<sup>27</sup> investigaram a composição química e a atividade antimicrobiana de diferentes frações de óleo essencial de alecrim. Através de análise por cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas, foram identificados 33 compostos. Os principais foram alfa-pineno, 1,8-cineol, cânfora, verbenona e borneol, constituindo cerca de 80% do total do óleo. Todas as frações evidenciaram atividade antifúngica contra *C. albicans* e *Aspergillus niger*.

O gengibre (*Zingiber officinale*) possui diversas propriedades, entre elas estão as atividades antiinflamatória, antiemética, antimutagênica, antiulcerogênica, hipoglicêmica, antibacteriana, entre outras<sup>28,29,30</sup>. A análise fitoquímica de rizomas de gengibre demonstrou a presença de 1 a 2,5% de óleo essencial, em cuja composição foram encontrados citral, cineol, borneol e os sesquiterpenos zingibereno e bisaboleno que são responsáveis pelo sabor forte e picante do gengibre. O óleo essencial responde pelo aroma e ação antimicrobiana, que só aparece no rizoma fresco<sup>24</sup>.

O óleo essencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), bem como a canela em pó, são empregados na preparação de alguns medicamentos na área farmacêutica. Esta planta apresenta propriedades estomáquica, carminativa e emenagoga<sup>31</sup>. Seu óleo essencial é rico em cinamaldeído, acompanhado do ácido cinâmico,

eugenol e linalol<sup>24</sup>. Quale et al<sup>32</sup> descreveram a atividade antifúngica da canela em um estudo piloto, no qual cinco pacientes com HIV e candidíase oral receberam uma preparação de canela, disponível comercialmente, durante uma semana. Após o tratamento, três dos cinco pacientes evidenciaram redução no quadro de candidíase, o que sugere novos estudos objetivados a determinar o uso da canela na candidíase orofaríngea.

#### MECANISMO DE AÇÃO ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

O mecanismo de ação pelo qual a maioria dos óleos essenciais exerce seu efeito antibacteriano envolve a parede celular bacteriana, onde os óleos essenciais desnaturam e coagulam proteínas. Mais especificamente, eles atuam alterando a permeabilidade da membrana citoplasmática aos íons de hidrogênio ( $H^+$ ) e potássio ( $K^+$ ). A alteração dos gradientes de íons conduz ao comprometimento dos processos vitais da célula como transporte de elétrons, translocação de proteínas, o processo de fosforilação e outras reações dependentes de enzimas, resultando em perda do controle quimiosmótico da célula afetada e, conseqüentemente, na morte do microrganismo<sup>6</sup>. Sugere-se também que o rompimento das paredes celulares das bactérias deva-se ao caráter lipofílico dos óleos essenciais que se acumulam nas membranas. As bactérias Gram-negativas possuem uma membrana externa rica em lipopolissacarídeos, responsáveis pelo caráter hidrofílico da superfície a qual funciona como uma barreira à permeabilidade das substâncias hidrofóbicas como os óleos essenciais. Isto pode explicar a reduzida suscetibilidade das bactérias Gram-negativas ao efeito antibacteriano de alguns óleos essenciais<sup>1,6,17</sup>.

#### TOXICIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais freqüentemente apresentam toxicidade elevada podendo causar intoxicações aguda e crônica. A toxicidade pode ser decorrente do uso tópico manifestando-se como fototoxicidade e alergias. Geralmente, ela é dose-dependente, entretanto, existem situações nas quais baixas doses podem provocar reações severas, sobretudo nos casos de alergia e fototoxicidade. Contudo, a maior parte dos dados relativos a toxicidade dos óleos diz respeito à administração oral<sup>3</sup>.

Chami et al<sup>9</sup> ao avaliarem as atividades do carvacrol e eugenol frente à candidíase oral em ratos imunodeprimidos não observaram toxicidade aguda nas doses utilizadas (160 e 380µg/kg), categorizando esses óleos como agentes promissores para tratamento de candidíase oral.

#### TÉCNICAS PARA AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA SUSCETIBILIDADE DE MICRORGANISMOS FRENTE AOS ÓLEOS ESSENCIAIS

As metodologias utilizadas para avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais incluem, fundamentalmente: técnicas de diluição em caldo, difusão em ágar e bioautografia<sup>33</sup>.

Os ensaios de diluição em caldo constituem-se no método padrão para a determinação de níveis de resistência a antimicrobianos. Estes podem ser executados pela técnica da macrodiluição, a qual é realizada em tubos de ensaio e necessita uma grande quantidade de meio de cultura; já a microdiluição é executada em microplacas estéreis com 96 poços, constituindo-se numa forma menos laboriosa e mais econômica de avaliação. O princípio desses métodos é expor um inóculo definido do microrganismo a conhecidas concentrações da droga em condições ótimas de crescimento e, a seguir, observar se o crescimento microbiano é minimizado ou não. A leitura final dos testes de diluição em meio líquido permite identificar a menor concentração da droga que inibe o crescimento do microrganismo, ou seja, a concentração inibitória mínima (CIM)<sup>33</sup>. Nesta concentração, o antimicrobiano pode ser bacteriostático ou bactericida. Adicionalmente, a partir da CIM, pode-se determinar a concentração bactericida ou fungicida mínima (CBM/CFM) através do subcultivo do conteúdo dos tubos ou poços em um meio sólido isento de substâncias inibitórias<sup>34,35,36</sup>.

O princípio da difusão em ágar baseia-se na inoculação de uma solução padronizada de um microrganismo na superfície de um ágar. Sobre este são colocados discos de papéis impregnados previamente com soluções das amostras que se deseja investigar a atividade antimicrobiana. As substâncias impregnadas nos discos de papel difundem-se no meio de cultura e, se a amostra em questão apresentar atividade inibitória sobre o microrganismo testado, forma-se um halo de inibição de crescimento ao redor do disco impregnado. Após os períodos de incubações, respeitadas as condições específicas para cada microrganismo, as zonas de inibição são medidas em volta de cada disco<sup>34,35</sup>.

A bioautografia baseia-se na aspersão de uma suspensão de microrganismos sobre um cromatograma<sup>36,37</sup>. Os testes são realizados utilizando-se placas de CCD (cromatografia em camada delgada). As placas são eluídas com mistura de solventes selecionados previamente de acordo com a melhor separação observada. O meio de cultura com ágar fundido é então inoculado com o microrganismo e, imediatamente, vertido sobre a placa de CCD que se encontra dentro de uma placa de Petri devidamente



esterilizada. Após a solidificação do ágar, a placa é levada à estufa bacteriológica por 24 horas. Após o período de incubação a placa é revelada com corante adequado através do qual se confirma se há ou não halos de inibição<sup>38</sup>.

## CONCLUSÃO

A presente revisão abordou a ação antimicrobiana de óleos essenciais extraídos de plantas popularmente utilizadas como condimentos. Em virtude do crescente número de microrganismos resistentes aos agentes antimicrobianos disponíveis comercialmente, é necessária a descoberta de novas drogas. A atividade antimicrobiana de óleos essenciais tem sido testada há muito tempo, não se constituindo numa novidade na área científica. O uso popularizado de condimentos torna os óleos essenciais um potente arsenal para novas propostas terapêuticas, as quais merecem ser avaliadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999; 12:564-582.
2. Tampieri MP, Galuppi R, Macchioni F, Carelle MS, Falcioni L. et al. The inhibition of *Candida albicans* by selected essential oils and their major components. *Mycopathologia*. 2005; 159:339-345.
3. Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 1ª ed. Porto Alegre, Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS, Ed. da UFSC; 1999.
4. International Standard Organization. ISO 9235: Aromatic natural raw materials – Vocabulary. Genebra, 1997.
5. Guenther E. Individual essential oils of the plant family Myrtaceae. In: *The Essential Oils*. 4.ed. vol 4. New York: Van Nostrand; 1977.
6. Dorman HJD, Deans SG. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 2000; 88:308-316.
7. Alves TMA, Silva AF, Brandão M, Grandi TSM, Smânia EFA, Smânia Júnior A. et al. Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 2000; 95:367-373.
8. Smith-Palmer A, Stewart J, Fyfe L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in Applied Microbiology*. 1998;118-122.
9. Chami N, Chami F, Bennis S, Trouillas J, Remmal A. Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2004; 8: 217-26.
10. Burt SA, Reinders RD. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology*. 2003; 36:162-167.
11. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*. 1999; 86:985-990.
12. Salzer UJ. The analysis of essential oils and extracts (oleoresins) from seasonings – a critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 1977; 9:345-373.
13. Lattaoui N, Tantaoui-Elaraki A. Individual and combined antibacterial activity of the main components of three thyme essential oils. *Rivista Italiana EPPOS*. 1994; 13:13-19.
14. Juliano C, Mattana A, Usai M. Composition and *in vitro* antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus herba-barona* Loisel growing wild in Sardinia. *Journal of Essential Oil Research*. 2000; 12:516-522.
15. Demetzos C, Perdetzoglou DK. Composition and antimicrobial studies of the oils of *Origanum calcaratum* Juss. and *O. scabrum* Boiss. et Heldr. from Greece. *Journal of Essential Oil Research*. 2001;13:460-462.
16. Cosentino S, Tuberoso CIG, Pisano B, Satta M, Mascia V, Arzede E. et al. *In vitro* antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Applied Microbiology*. 1999; 29:130-135.
17. Chao SC, Young DG, Oberg CJ. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. *Journal of Essential Oil Research*. 2000; 12:639-649.
18. Nostro A, Blanco AR, Cannatelli MA, Enea V, Flamini G, Morelli I. et al. Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococci* to oregano essential oil, carvacrol and thymol. *FEMS Microbiology Letters*. 2004; 230:191-195.
19. Sartoratto A, Machado ALM, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MCT, Rehder VLG. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2004; 35:275-280.
20. Pina-Vaz C, Rodrigues AG, Pinto E, Oliveira SC, Tavares C, Salgueiro L. Antifungal activity of *Thymus* oils and their major compounds. *Journal of the European Academy of Dermatology & Venereology*. 2004; 18:73-78.
21. Cáceres, A. *Plantas de uso medicinal en Guatemala*. San Carlos, (Guatemala): Ed. Universitaria; 1999.
22. Manohar V, Ingram C, Gray J, Talpur NA, Echard BW, Bagchi D. et al. Antifungal activities of origanum oil against *Candida Albicans*. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2001;228:11-117.
23. Salgueiro LR, Cavaleiro C, Goncalves MJ, Proenca da Cunha A. Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Lippia graveolens* from Guatemala. *Planta Medica*. 2003;

- 69:80-83.
24. Lorenzi H, Matos FJA. *Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas*. 1ª ed. Nova Odessa (SP):Instituto Plantarum; 2002.
25. Pereira RS, Sumita TC, Furlan MR, Jorge AOC, Ueno M. Antibacterial activity of essential oils on microorganisms isolated from urinary tract infection. *Rev. Saúde Pública*. 2004; 38:326-328.
26. Mangena T, Muyima NYO. Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Letters in Applied Microbiology*.1999; 28:291-296.
27. Santoyo S, Ibanez E, Senorans FJ, Reglero G. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *Journal of Food Protection*. 2005; 68:790-795.
28. Utpalendu J, Chattopadhyay R.N., Prasad S.B. Preliminary studies on anti-inflammatory activity of *Zingiber officinale* Roscoe, *Vitex negundo* Linn. and *Tinospora cordifolia* (Willid) Miers in albino rats. *Indian Journal of Pharmacology*. 1999; 31:232-233.
29. Vishwakarma SL, Pal SC, Kasture VS, Kasture SB. Anxiolytic and antiemetic activity of *Zingiber officinale*. *Phytother Res*. 2002; 16:621-626.
30. Yoshikawa M, Yamaguchi S, Kunimi K, Matsuda H, Okuno Y, Yamahara J. et al. Stomachic principles in ginger. III. An anti-ulcer principle, 6-gingsulfonic acid, and three monoacyldigalactosylglycerols, ginglycolipids A, B and C, from *Zingiberis Rhizoma* originating in Taiwan. *Chinese Pharmacological Bulletin*. 1994; 42:1226-1230.
31. Souza MP, Matos MEO, Matos FJA, Machado MIL, Craveiro AA. *Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras*. 1ª ed. Fortaleza (CE): Edições UFC/Laboratório de Produtos Naturais; 1991.
32. Quale JM, Landman D, Zaman MM, Burney S, Sathe SS. In vitro activity of *Cinnamomum zeylanicum* against azole resistant and sensitive *Candida* species and a pilot study of cinnamon for oral candidiasis. *American Journal of Chinese Medicine*. 1996; 24:103-109.
33. Rex JH, Pfaller MA, Rinaldi MG, Polak A, Galgiani JN. Antifungal susceptibility testing. *Clin. Microbiol. Rev*. 1993; 6:367-381.
34. Isenberg HD. *Clinical microbiology procedures handbook*. American Society for Microbiology. vol1. Washington, D.C; 1992.
35. Koneman EW, Allen SD, Janda WN, Schreckenberger PC, Winn Jr WC. *Antimicrobial susceptibility testing*. In: *Color atlas and text book of diagnostic microbiology*. 5.ed. Philadelphia- New York: Lippincott, 1997: 398-408.
36. Takahashi T, Kokubo R, Sakaino M. Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from *Eucalyptus maculata*. *Letters in Applied Microbiology*. 2004; 39:60-64.
37. Collins CH, Braga GI, Bonato PS. *Introdução a métodos cromatográficos*. UNICAMP, 7ª ed. São Paulo, 1997.
38. Corrêa GR, Oliveira CMA. *Avaliação química e biológica de espécies nativas do cerrado/GO frente a bactérias, utilizando-se bioautografia como método de detecção*. Congresso de pesquisa, ensino e extensão da UFG - Conpeex, 2. Goiânia, Brasil, 2005.

Patrícia Pozzatti  
End.: Campus Universitário - Prédio 20 – Sala 4136  
CEP. 97.105-900  
E-mail: patipozzatti@yahoo.com.br  
Fone: 55-3220-8906/ 32235847