

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO ETANÓLICO DO TOMILHO
(*Thymus vulgaris* L.) IN VITRO**

EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ETHANOL THYME EXTRACT (*Thymus vulgaris* L.) IN VITRO

Tamyris B. Silva^{1*}, Ellen T. Rangel²

¹ Faculdades Integradas da União Educacional do Planalto Central. SIGA Área Especial n. 2 – Setor Leste – Gama-DF, CEP 72460-000.

² Universidade Católica de Brasília. Q.S. 7 Lote 01 EPCT – Águas Claras – Taguatinga-DF, CEP 71966-700.

E-mail **para correspondência**: tamyrisborges@gmail.com

Recebido em 22/10/2009 – Aceito em 04/06/2010

RESUMO: *Thymus vulgaris*, conhecida como tomilho, é uma planta culturalmente utilizada como condimento e seu óleo essencial é comumente usado como antimicrobiano e antioxidante. Foi avaliada neste estudo a atividade antimicrobiana de *Thymus vulgaris* a partir de uma extração etanólica de suas folhas, por meio do método de difusão em discos, sendo utilizadas nessa avaliação cepas fúngicas e bacterianas, onde a eficiência do extrato foi avaliada por meio dos halos de inibição formados quando comparados aos medicamentos tradicionais. Além da avaliação antimicrobiana, foi realizada uma análise fitoquímica para uma determinação qualitativa de alguns constituintes do extrato. Foi possível observar melhor atividade sobre as cepas do fungo *Candida glabrata*, com formação de um halo de inibição de $10,0 \pm 0,6$ mm, e da bactéria *Staphylococcus aureus*, na qual formou-se um halo de $12,3 \pm 0,6$ mm, analisando-se também que o extrato não tem potencial antimicrobiano sobre *Candida parapsilosis* e *Escherichia coli*, uma vez que não houve formação de halo em nenhuma das concentrações testadas. Estão presentes na composição do extrato: flavonoides, taninos, cumarinas, fenóis e esteroides. É possível concluir, a partir dos dados obtidos, a existência de atividade antimicrobiana no extrato, porém, são necessários estudos mais detalhados para a verificação dessa ação e da possibilidade do surgimento de um eficaz antimicrobiano.

Palavras-chave: fungos, bactérias, atividade antimicrobiana, *Thymus vulgaris* L.

ABSTRACT: *Thymus vulgaris*, known as thyme, is a plant culturally used for flavoring and its essential oil is commonly used as antimicrobial and antioxidant. This study evaluated the antimicrobial activity of *Thymus vulgaris* from an ethanolic extract of its leaves through the method of distribution in disks, using fungal and bacterial strains, where the efficiency of the extract was assessed by the halos of inhibition when compared to traditional medicines. Besides the antimicrobial evaluation, a phytochemical analysis was carried out aiming the qualitative determination of some extract constituents. We could observe a better activity on the strains of the fungus *Candida glabrata*, forming a halo of inhibition of $10,0 \pm 0,6$ mm, and the bacterium *Staphylococcus aureus*, forming a halo of $12,3 \pm 0,6$ mm; we also observed that the extract has no antimicrobial potential over *Candida parapsilosis* and *Escherichia coli*, since there was no formation of halo in any of the concentrations tried. The extract is composed of: flavonoids, tannins, coumarins, phenols, and steroids. One may infer from the data the existence of antimicrobial activity in the extract, however, more detailed studies are needed to verify this action and the potential emergence of an effective antimicrobial agent.

Keywords: fungi, bacteria, antimicrobial activity, *Thymus vulgaris* L.

INTRODUÇÃO

Desde tempos remotos, as plantas são utilizadas com finalidades terapêuticas, sendo que a maior parte dessa utilização advém primeiramente do conhecimento popular e tradicional. Esse conhecimento pode levar à descoberta de importantes moléculas e medicamentos nas áreas médica e farmacêutica (FERNANDES; SANTOS, 2005).

A busca por novas moléculas com atividade terapêutica tem aumentado a cada dia, uma vez que se observa um aumento na taxa de resistência dos microorganismos, principalmente aqueles oportunistas que afetam geralmente os pacientes hospitalizados e imunossuprimidos, chegando a provocar sua morte, além dos efeitos tóxicos e baixa eficácia de alguns medicamentos disponíveis no mercado (ANDRADE; LEOPOLDO; HAAS, 2006). Mediante essa realidade, a necessidade de novas alternativas terapêuticas tornou-se evidente, assim, as plantas medicinais surgem como fonte de novas moléculas com grande potencial antimicrobiano (MENEZES et al., 2007).

O tomilho é uma planta originária da Europa e cultivada no Sul e Sudeste do Brasil. As folhas e ramos novos desse pequeno arbusto são tipicamente utilizados na culinária como condimento e erva aromática, e seu óleo essencial é usado como antimicrobiano e antioxidante, sendo que o timol é o principal constituinte do tomilho (SANTORO et al., 2007; MEWES; KRUGER; PANK, 2008).

Partindo desse princípio, este estudo tem como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do extrato etanólico de *Thymus vulgaris* L. (tomilho) diante de algumas cepas

bacterianas e fúngicas, visto que estudos comprovam ação sobre microorganismos a partir do óleo essencial dessa planta e não por meio do extrato polar da mesma, além de realizar uma análise fitoquímica dos constituintes do produto advindo de uma extração com solvente polar.

MÉTODOS

Foi realizado um levantamento bibliográfico em fontes científicas indexadas da internet sobre os componentes de *Thymus vulgaris* L. (tomilho) que pertence à família das *Lamiaceae*, e sua relação com a atividade antimicrobiana. Fez-se, então, um levantamento de dados em artigos, periódicos, dissertações de mestrado e teses de doutorado, onde foram constatados vários estudos da atividade antibacteriana e antifúngica do óleo essencial das folhas do tomilho, mas nenhum estudo indexado sobre a atividade antimicrobiana de extratos polares dessas folhas, sendo alguns estudos relacionados somente ao uso popular.

Os extratos foram obtidos a partir de flocos das folhas secas e trituradas de *Thymus vulgaris* L., sendo realizada uma maceração das folhas da planta em etanol absoluto (1:3 p/v) por dez dias, em frasco fechado, à temperatura ambiente (aproximadamente 25°C) e ao abrigo da luz, seguida de filtração e dessecação para a obtenção do extrato bruto.

A metodologia utilizada no experimento para a avaliação da atividade antimicrobiana do extrato é a mesma adotada pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards – NCCL (1999), sendo o método de difusão em discos, onde o extrato foi diluído em

Dimetilsulfóxido (DMSO) nas concentrações de 50 mg/ml, 100 mg/ml e 200 mg/ml para a inoculação nos discos. Foram utilizadas nos testes as seguintes cepas fúngicas: *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida glabrata* (ATCC 66032), *Candida parapsilosis* (ATCC 22019) e *Cryptococcus neoformans* (ATCC 90112). Já em relação a cepas bacterianas, foram utilizadas *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Streptococcus faecalis* (ATCC 9790).

Após incubação das placas, procederam-se às leituras dos halos de inibição, incluindo o diâmetro do disco, com o auxílio de régua milimetrada. O cálculo foi realizado a partir da média das três leituras da amostra sob teste. Colônias que cresceram no halo de inibição foram consideradas resistentes àquele extrato testado. Extratos ativos foram considerados aqueles que obtiveram halos maiores que 10 mm.

Para o cálculo da atividade antibacteriana e antifúngica, os resultados foram expressos em termos de média \pm erro padrão da média (\pm EPM).

Foi realizada a análise fitoquímica preliminar do extrato de *Thymus vulgaris* L. por via úmida, sendo esta apenas uma análise qualitativa, onde foram verificadas as presenças de alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, cumarinas, fenóis e terpenos (MATOS, 1988).

RESULTADOS

O extrato etanólico de folhas de *Thymus vulgaris* L. foi testado nas concentrações de 50 mg/ml, 100 mg/ml e 200 mg/ml sobre cepas de bactérias e fungos leveduriformes. A pesquisa foi realizada em triplicata e o valor dos halos corresponde à média \pm o erro padrão da média dos resultados encontrados. Os resultados podem ser observados nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1 – Média da dimensão da zona de inibição (mm) formada pelo padrão e extrato bruto etanólico de folhas de *Thymus vulgaris* em exposição a vários fungos

	Halos (mm)		Halos (mm)		Halos (mm)
	Controle negativo	Controle positivo	Extrato	Extrato	Extrato
	DMSO	50 mg/ml	100 mg/ml	200 mg/ml	Fluconazol 10 mg/ml
<i>Candida albicans</i>	-	9,6 \pm 2	7,3 \pm 0,6	8,6 \pm 0,6	26,6 \pm 4
<i>Candida glabrata</i>	-	10,0 \pm 0,6	8,0 \pm 1	-	11,3 \pm 5,8
<i>Candida parapsilosis</i>	-	-	-	-	24,0 \pm 10
<i>Cryptococcus neoformans</i>	-	7,3 \pm 0,6	8 \pm 1	8,3 \pm 0,6	20,0 \pm 1

* - : Não houve formação de halo de inibição.

Tabela 2 – Média da dimensão da zona de inibição (mm) formada pelo padrão e extrato bruto etanólico de folhas de *Thymus vulgaris* em exposição a várias bactérias

	Halos (mm)		Halos (mm)		Halos (mm)
	Controle negativo		Extrato		Controle positivo
	DMSO	50 mg/ml	100 mg/ml	200 mg/ml	Cefalotina 30 µg
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	17,3 ± 1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	9,3 ± 1	8,6 ± 2,3	7,3 ± 0,6	16,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	11,0 ± 1,7	12,3 ± 0,6	10,0	26,0 ± 3
<i>Streptococcus faecalis</i>	-	7,3 ± 0,6	7,3 ± 0,6	-	16,0 ± 1

* - : Não houve formação de halo de inibição.

A metodologia baseada no método de Bauer et al. (1966) utilizou como padrão de controle negativo DMSO, que foi o solvente diluente do extrato nas três concentrações testadas, e também o padrão de controle positivo com Fluconazol para cepas fúngicas e Cefalotina para as bactérias.

Considerando ativo apenas os halos maiores que 10 mm, foi possível observar que o extrato etanólico das folhas de *Thymus vulgaris* L. na concentração de 50 mg/ml teve uma maior ação antifúngica na cepa de *Candida glabrata* devido ao maior halo de inibição formado (10,0 ± 0,6 mm), se comparados com as cepas fúngicas de *Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans*. Quanto ao fungo *Candida parapsilosis* o extrato etanólico das folhas de *Thymus vulgaris* L. não mostrou atividade, uma vez que, não houve

formação de halo de inibição em nenhuma das concentrações testadas.

Observou-se que o extrato do tomilho apresentou melhor atividade antibacteriana nas placas incubadas com *Staphylococcus aureus*, apresentando um maior halo de inibição em todas as concentrações testadas se comparado com as cepas de *Pseudomonas aeruginosa* e *Streptococcus faecalis*.

Quanto à bactéria *Escherichia coli*, o extrato de *Thymus vulgaris* L. não mostrou atividade, uma vez que, não houve formação de halo de inibição em nenhuma das concentrações testadas.

A análise fitoquímica preliminar do extrato das folhas de *Thymus vulgaris* revelou a presença de flavonoides, taninos, cumarinas, fenóis e esteroides, conforme pode ser verificado na Tabela 3.

Tabela 3 – Análise fitoquímica preliminar de extrato etanólico de folhas de *Thymus vulgaris* (tomilho)

Grupos de metabólito secundário	Resultado
Alcaloides	Negativo
Flavonoides	Positivo
Taninos	Positivo
Saponinas	Negativo
Cumarinas	Positivo
Fenóis	Positivo
Terpenos	Positivo

DISCUSSÃO

A planta selecionada como objeto de estudo deste trabalho foi *Thymus vulgaris* L., o tomilho, por ser uma espécie muito utilizada como condimento na culinária brasileira e do mundo, além de ser de ocorrência na flora brasileira; possuir relatos de utilização medicinal e poucos estudos científicos sobre essa espécie.

O levantamento bibliográfico demonstrou alguns estudos avaliando a atividade antifúngica do tomilho que foram realizados a partir de seu óleo essencial, relatando que o mesmo possui grande potencial antifúngico, além de atuar na inibição de bactérias importantes, principalmente a *Staphylococcus aureus*, e protozoários como *Entamoeba histolytica* e *Trypanosoma cruzi*. Essa ação antimicrobiana está relacionada à presença de moléculas constituintes de seu óleo essencial como timol, carvacrol, borneol e linalol, além de uma importante característica: sua hidrofobicidade, que acarreta em uma característica na qual o óleo atravessa a membrana celular do patógeno para afetar suas vias metabólicas

e/ou organelas citoplasmáticas (BEHNIA et al., 2008; SOKOVIC et al., 2009).

A partir das pesquisas já realizadas com o óleo essencial de *Thymus vulgaris* L., surgiu o interesse na avaliação da atividade antimicrobiana dessa planta, porém, a partir de uma extração polar (etanólica) das folhas comercializadas de *Thymus vulgaris* L., uma vez que, na literatura os relatos dos usos populares evidenciam sua utilização seja na culinária ou na terapia geralmente com solventes polares.

Muitas pesquisas sobre a ação de produtos naturais têm sido priorizadas, principalmente aquelas com finalidades antimicrobianas. Isso se deve ao fato de que, cada dia mais, os fármacos disponíveis no mercado tornam-se menos eficazes, principalmente, quanto à grande capacidade mutacional dos microorganismos que os tornam resistentes a essas substâncias (TAVARES, 2000).

A metodologia utilizada no experimento para a avaliação do extrato contra espécies fúngicas e bacterianas foi o método da difusão em ágar, baseado na técnica descrita por

Bauer et al. (1966). Esse método é bastante utilizado em laboratórios de micologia clínica para testes com possíveis antimicrobianos, uma vez que é fácil, rápido, econômico e também considerado confiável, sendo possível selecionar extratos com potencial de grande utilidade química e farmacológica, porém, existe um problema nessa técnica, uma vez que, dependendo, entre outros fatores, da viscosidade e hidrossolubilidade do extrato mesmo quando diluído, ele pode apresentar baixa diluição e difusão no ágar e, conseqüentemente, sendo um teste de baixa sensibilidade, além do que falta uma padronização nos testes de sensibilidade (ALLEN; MOLAN; REID, 1991).

Em alguns resultados, a melhor atividade encontrada foi para as menores concentrações, como é o caso das cepas de *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Pseudomonas aeruginosa*. Possivelmente, esse fato pode estar relacionado a uma saturação e uma baixa difusibilidade do extrato pelo meio, resultando em menor ação antimicrobiana em concentrações maiores.

A análise fitoquímica preliminar realizada com o extrato etanólico de folhas de *Thymus vulgaris L.* revelou a presença de fenóis, flavonoides, terpenos, taninos e cumarinas como principais metabólitos secundários. Alguns desses constituintes químicos presentes no extrato possuem atividade antimicrobiana confirmada como os flavonoides (DOURADO; LADEIRA, 2008), os taninos (LOGUERCIO et al., 2005), as cumarinas (BARATTO, 2007) e os fenóis (ALMEIDA, 2007).

Os fungos do gênero *Candida* apresentam uma maior susceptibilidade a extratos de plantas de acordo com relatos já evidenciados em outros estudos (LEMOS et al., 1992; MARTINEZ et al.; 1994; SAXENA et al., 1994; NASCIMENTO et al., 2000). Neste estudo, o extrato etanólico de *Thymus vulgaris L.* apresentou uma melhor atividade sobre a cepa de *Candida glabrata*, formando um halo de inibição com média de $10 \pm 0,6$ mm na concentração de 50 mg/ml, valor próximo ao encontrado no halo formado pelo padrão positivo com Fluconazol a 10 mg/ml ($11 \pm 5,8$ mm). Porém, a mesma atividade não pode ser observada na cepa de *Candida parapsilosis*, uma vez que, o extrato não apresentou ação antifúngica sobre ela.

Sobre as bactérias testadas, foi possível observar uma melhor atividade antibacteriana sobre as cepas gram-positivas, tendo uma maior ação sobre *Staphylococcus aureus*, onde houve uma média de formação de halo de $12,3 \pm 0,6$ mm na concentração de 100 mg/ml do extrato, e uma inatividade total do extrato etanólico de *Thymus vulgaris L.* sobre a bactéria gram-negativa *Escherichia coli*. Esses resultados podem ser explicados pela diferença entre a parede celular das bactérias gram-positivas menos complexas que a das gram-negativas. Essa notória atividade antibacteriana contra as bactérias gram-positivas levam a certo otimismo, sendo que o extrato etanólico das folhas de *Thymus vulgaris L.* pode ser uma nova opção terapêutica utilizada contra cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus* e outras gram-positivas, como MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) e

VRSA (Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*), que são grandes vilões principalmente para pacientes imunossuprimidos (KLEIN; GOULART, 2008).

Os achados deste trabalho estão de acordo com os resultados obtidos por Khan (2001), que realizaram uma avaliação dos extratos de folhas de *Symplocos cochinchensis*, e com os de Srinivasan (2001), que fizeram um estudo sobre a atividade antimicrobiana de algumas plantas utilizadas tradicionalmente na medicina indiana. Esses dois estudos obtiveram atividades antimicrobianas melhores em cepas gram-positivas quando comparadas a cepas gram-negativas testadas.

Essa discrepância de resultados na atividade antibacteriana do extrato entre os dois grupos bacterianos possivelmente está diretamente relacionada à diferença na constituição da parede celular bacteriana das gram-positivas e gram-negativas, uma vez que, as gram-positivas apresentam uma parede celular quimicamente menos complexa e com menor camada lipídica quando comparadas com as gram-negativas; além dos constituintes presentes no extrato de *Thymus vulgaris L.*, principalmente os taninos, sendo que existem estudos que relacionam o teor de taninos com a atividade antibacteriana contra bactérias gram-positivas (KHAN, 2001; SRINAVASAN, 2001; CIMANGA et al., 2002; MONTEIRO et al., 2005; SOUZA et al., 2007).

O extrato etanólico das folhas de *Thymus vulgaris L.* surge como uma nova possibilidade de agente antimicrobiano, sendo

necessários mais estudos para a exploração e elucidação de suas atividades biológicas e sua possível aplicação como um fármaco antifúngico e antibacteriano (DUARTE, 2006).

CONCLUSÃO

O extrato etanólico das folhas de *Thymus vulgaris L.*, tomilho, apresentou, na análise fitoquímica preliminar, a presença de fenóis, flavonoides, terpenos, taninos e cumarinas.

O extrato analisado do tomilho possui um potencial antimicrobiano contra os microorganismos, principalmente contra *Candida glabrata* e *Staphylococcus aureus*, cepas as quais foram obtidas as melhores atividades *in vitro*, sendo que o mesmo apresentou uma elevada atividade contra a bactéria *Staphylococcus aureus*, que é uma bactéria gram-positiva, sendo um possível potente antibacteriano para cepas gram-positivas multirresistentes.

A partir dos resultados obtidos no trabalho, sugerem-se novos estudos mais aprofundados e específicos com o extrato etanólico de *Thymus vulgaris L.* com a finalidade de descobrir e conhecer melhor suas atividades biológicas e, possivelmente, chegar a uma importante molécula isolada responsável pela atividade antimicrobiana, além de verificar seus possíveis efeitos adversos e resistências cruzadas, e, dessa maneira, possibilitar o surgimento de um novo antimicrobiano com grande potencial no mercado farmacêutico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN KL, MOLAN PC, REID GM. A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1991, 43: 817-822.

ALMEIDA AAP. Atividade antimicrobiana de extratos e de compostos fenólicos e nitrogenados do café: avaliação *in vitro* e em modelo alimentar. 2007. 137 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

ANDRADE D, LEOPOLDO VC, HAAS VJ. Ocorrência de bactérias multirresistentes em um centro de Terapia Intensiva de Hospital brasileiro de emergências. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*, 2006, 18(1).

BARATTO LC. Avaliação da atividade antimicrobiana do guaco (*Mikania laevigata*) obtido em cultivos hidropônico e tradicional. 2007. Trabalho Acadêmico – Curso de Farmácia, Universidade de Santa Catarina. Disponível em: <http://www.sepex.ufsc.br/anais_6/trabalhos/618.html>. Acesso em: 20 maio 2009.

BAUER AW et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *American Journal of Clinical Pathology*, 1966, 45: 494-496.

BEHNIA M et. al. Inhibitory effects of Iranian *Thymus vulgaris* Extracts on in vitro growth of *Entamoeba histolytica*. *Korean Journal of Parasitology*, 2008, 46(3):153-156.

CIMANGA K et al. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology*. 2002, 79(2): 213-220.

DOURADO RS, LADEIRA AM. Identificação de flavonoides em *Hypericum cordatum* (Vell.) N. Robson (Clusiaceae). *Revista Brasileira de Botânica*, 2008, 31(4).

DUARTE MCT. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. Disponível em: <http://www.multiciencia.unicamp.br/artigos_07/a_05_7.pdf>. Acesso em: 21 mar. 2009.

FERNANDES TT, SANTOS ATF. Atividade antimicrobiana das plantas *Plathyenia reticulata*, *Hymenaea courbaril* e *Guazuma ulmifolia*. *Revista de Patologia Tropical*, 2005, 34(2): 113-122.

KHAN MR. Antimicrobial activity of *Symplocos cochinchensis*. *Fitoterapia*, 2001, 72(7): 825-828.

KLEIN G, GOULART LS. Prevalência de *Staphylococcus aureus* multirresistentes em amostras biológicas do Laboratório Osvaldo Cruz, Uruguaiana-RS. *Revista Brasileira de Farmácia*, 2008, 89(2): 121-124.

LEMOS TLG. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Brazilian plants. *Fitoterapia*, 1992, 63:266-268.

LOGUERCIO AP. et al. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). *Ciência Rural*, 2005, 35(2).

MARTINEZ MJ et al. Antimicrobial properties of argentatine A isolated from *Parthenium argentatum*. *Fitoterapia*, 1994, 65: 371-372.

MATOS FJ. A. Introdução a fitoquímica experimental. Fortaleza: Imprensa Universitária da UFC, 1988.

MENEZES EA et al. Frequência e percentual de suscetibilidade de bactérias isoladas em pacientes atendidos na unidade de terapia intensiva do Hospital Geral de Fortaleza. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 2007, 43(3).

MEWES S, KRUGER H, PANK F. Physiological morphological chemical and genomic diversities of different origins of thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Genetic Resources Crop Evolution*, 2008, 55: 1303-1311.

MONTEIRO JM. et al. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. *Química Nova*, 2005, 28(5).

NASCIMENTO GGF et al. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2000, 31(4): 247- 256.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS – NCCLS. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. Pennsylvania: NCCLS, 1999.

SANTORO GF et al. Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure. *Parasitology Research*, 2007, 100(4): 783–790.

SAXENA G et al. Antimicrobial constituents of *Rhus glabra*. *Journal of Ethnopharmacology*, 1994, 42(2): 95-99.

SOKOVIC MD et al. Chemical composition of essential oils of *Thymus* and *Mentha* species and their antifungal activities. *Molecules*, 2009, 14:238-249.

SOUZA TM et al. Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). *Revista de Ciências Farmacêuticas Básicas e Aplicadas*, 2007, 28(2): 221-226.

SRINIVASAN D. Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 2001, 74(2): 217-220.

Silva, T. B.; Rangel, E.T./Revista Eletrônica de Farmácia Vol 7(2), 48 – 58, 2010.

TAVARES W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2000, 33(3):.