
ACÇÃO ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE MICRORGANISMOS POTENCIALMENTE CAUSADORES DE INFECÇÕES OPORTUNISTAS

*José Carlos L. V. de Araújo^{1,2}, Edeltrudes de O. Lima^{1,2,3}, Beatriz S. O. de Ceballos⁴,
Kristerson R. de L. Freire³, Evandro L. de Souza³ e Lauro Santos Filho²*

RESUMO

Os processos infecciosos causados por agentes microbianos são muito frequentes no Brasil, em consequência de seu clima tropical. Esses processos afetam pele, pêlos, unhas, mucosas, tecido subcutâneo, órgãos e sistemas. Como as infecções bacterianas e fúngicas são tratadas por meio da correção de fatores predisponentes e de terapêutica medicamentosa, este estudo se propõe a avaliar o potencial antimicrobiano de óleos essenciais, obtidos de plantas medicinais, contra diversas espécies microbianas conhecidas como potencialmente causadoras de infecções oportunistas, incluindo bactérias e fungos. Os resultados evidenciaram uma proeminente atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum* Blume a 4%, de *Coniza bonariensis* L. a 4% e de *Lippia alba* N. E. Brown a 8%, os quais inibiram o crescimento de 72%, 61% e 44%, respectivamente, das cepas testadas, apresentando halos de inibição do crescimento microbiano entre 10 e 24 mm de diâmetro.

DESCRITORES: Microrganismos oportunistas. Infecções. Óleos essenciais. Plantas medicinais.

1. Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

2. Departamento de Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

3. Laboratório de Micologia, Departamento de Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

4. Departamento de Engenharia Civil do CCT da Universidade Federal de Campina Grande.

Endereço para correspondência: Edeltrudes de O. Lima. Laboratório de Micologia/ Departamento de Ciências Farmacêuticas/ Centro de Ciências da Saúde/ Universidade Federal da Paraíba/ Campus Universitário I – Castelo Branco III - 58059-900 – João Pessoa - PB – Fax: 0832167094. E-mail: edelolima@yahoo.com.br

Recebido para publicação em 6/8/2003. Revisto em 11/5/2004. Aceito em 31/5/2004.

INTRODUÇÃO

Os processos infecciosos causados por agentes microbianos oportunistas são muito freqüentes no Brasil, em decorrência de suas condições geoclimáticas. Intimamente atrelado a essa particularidade ocorre um largo surgimento de infecções bacterianas e fúngicas, as quais ocupam um lugar de destaque dentro do panorama das doenças caracterizadas como tropicais (7). Em conseqüência dessas ações infecciosas, podem ocorrer não só injúrias na pele, nas unhas, nas mucosas bucal e vaginal, nos brônquios, nos pulmões, mas também, eventualmente, septicemias, endocardites, meningites, abscessos cerebrais e pielonefrites. Tais processos infecciosos podem ser caracterizados clinicamente como processos agudos, subagudos ou crônicos (14, 26, 29, 31).

Geralmente, espécies pertencentes aos gêneros *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Listeria*, *Vibrio*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Rhizopus* e *Fusarium* apresentam-se como os principais agentes etiológicos dessas infecções (10, 14, 22). Dentre os vários fatores predisponentes à ação de tais microrganismos, destacam-se: 1) o tratamento prolongado com antibióticos, corticóides ou drogas citotóxicas; 2) as doenças crônicas e degenerativas; 3) as enfermidades do sistema hematopoético; 4) a desnutrição; 5) as queimaduras; 6) o diabetes; e 7) a síndrome da imunodeficiência adquirida (24, 26).

O tratamento das infecções bacterianas e fúngicas é baseado numa ação sobre o agente etiológico, através de uma interferência sobre mecanismos celulares essenciais à sua sobrevivência, bem como de uma ação corretiva ou supressora dos fatores predisponentes à instalação do processo infeccioso. O uso de antimicrobianos necessita de critérios rigorosos, por conta dos efeitos colaterais produzidos pela grande maioria desses compostos. Vale ressaltar que as pesquisas têm revelado muitas substâncias possuidoras de ação inibitória sobre essa variedade de microrganismos (14, 21, 29).

Assim, a pesquisa com extratos, frações e óleos essenciais oriundos de espécies vegetais visa a uma possível aplicação racional de princípios ativos no tratamento de infecções causadas por fungos, bactérias, parasitas ou vírus (5, 8, 11). As descobertas de constituintes químicos com potentes atividades farmacológicas, embora ainda não inteiramente elucidadas, têm surpreendido a comunidade médico-científica (28, 33, 34, 35). Com base nessa constatação, este estudo se propõe a avaliar o potencial antimicrobiano de óleos essenciais de plantas medicinais contra espécies bacterianas e fúngicas reconhecidas como causadoras de processos infecciosos oportunistas.

MATERIAL E MÉTODOS

Material botânico

Este estudo avaliou o potencial de ação antimicrobiana de óleos essenciais extraídos de sete espécies vegetais – regionais e adaptadas – reconhecidamente possuidoras de propriedades terapêuticas (3, 4, 32, 38, 43). O material botânico foi obtido da coleção do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba) no período de março a outubro de 2002. Procedeu-se, em seguida, à identificação, catalogação e registro no Herbarium Lauro Pires Xavier (Departamento de Sistemática e Ecologia/Centro de Ciências Exatas e da Natureza/Universidade Federal da Paraíba). As espécies vegetais utilizadas para extração dos óleos essenciais foram: *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela), JPB 25.502, família Lauraceae; *Conyza bonariensis* L. (rabo-de-raposa), JPB.374, família Compositae; *Cymbopogon citratus* Stapf. (capim-santo), JPB 26.374, família Gramineae; *Eucalyptus citriodora* Hook (eucalipto), JPB 26.503, família Myrtaceae; *Eugenia uniflora* Linn. (pitanga), JPB 26.371, família Myrtaceae; *Lippia alba* E. Brown, JPB 26.390, família Verbenaceae; e *Ruta graveolens* L. (arruda), JPB 26.367, família Rutaceae. Os óleos essenciais foram extraídos de partes aéreas, cascas e folhas das espécies vegetais em estado de crescimento, através da técnica de hidrodestilação, com a utilização do aparelho de Clevenger (15, 38).

Cepas de microrganismos

Para avaliar o perfil de sensibilidade, testou-se a ação dos óleos essenciais contra as seguintes cepas bacterianas: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Listeria grayi*, *Listeria seeligeri*, *Listeria weilshineri*, bem como contra cepas fúngicas, como *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii*, *Candida krusei*, *Trichosporun inkin*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Penicillium* spp., *Geotrichm candidum*, *Fusarium* spp. e *Rhizopus* spp. As cepas fúngicas e bacterianas utilizadas como testes foram obtidas da coleção de microrganismos do Laboratório de Micologia e do Laboratório de Bacteriologia Clínica do Departamento de Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, onde rotineiramente se isolam e se identificam microrganismos a partir de amostras clínicas, utilizando-se, para tal, procedimentos padrões (24, 26, 27, 35). Com as cepas selecionadas foram preparadas suspensões, para servir como inóculos, em solução fisiológica esterilizada a 0,85% (8, 36). As suspensões foram preparadas e comparadas com a suspensão de sulfato de bário do tubo 0,5 da escala de McFarland, sendo feita então a contagem celular

em câmara de Neubauer, ajustada em espectrofotômetro (Leitz-Photometer 340-800) para conter aproximadamente 10^6 UFC/mL (13).

Avaliação da atividade antimicrobiana

Os testes de avaliação da atividade antimicrobiana de cada óleo essencial foram executados para estabelecer a menor concentração – concentração inibitória mínima (CIM) – capaz de inibir o crescimento das cepas microbianas testadas

O estudo foi realizado através da técnica de difusão em meio sólido, utilizando o processo de cavidade em placa (8, 12, 20). Inicialmente, 1mL da suspensão do microrganismo (10^6 UFC/mL) foi inoculado uniformemente em placas de Petri contendo ágar Muller-Hinton, quando testada a sensibilidade de cepas bacterianas, e contendo ágar Sabouraud, quando testada a sensibilidade de cepas fúngicas. Em seguida, foram feitas cavidades com cânulas de vidro estéreis (6mm de diâmetro), nas quais foram depositados 50 μ L de cada concentração do óleo essencial a ser testado. As diferentes concentrações dos óleos essenciais foram obtidas da seguinte forma: em tubo estéril foi adicionado 0,4mL do óleo essencial, 0,04 mL de Tween 80 e q.s.p. para 5 mL com água destilada estéril. Tal mistura foi então agitada por cinco minutos, usando-se Vortex. Em seguida foi feita a diluição seriada, obtendo-se soluções dos óleos essenciais nas concentrações de 8, 4, 2, 1, 0,5 e 0,25% (2).

A etapa seguinte da avaliação constou da realização de ensaios-controles de viabilidade das cepas microbianas e com o antifúngico padrão, cloranfenicol (30 μ g/mL) e cetoconazol (50 μ g/mL), respectivamente, para cepas bacterianas e fúngicas. Todos os ensaios foram realizados em duplicata, em um período de incubação de 24–48 h /37°C, para bactérias e fungos leveduriformes, e de 10–14 dias/28°C, para fungos filamentosos. O resultado final foi determinado pela média aritmética dos valores dos halos de inibição obtidos nos dois ensaios. A concentração do óleo essencial considerada como possuidora de atividade antimicrobiana foi aquela que, durante a aplicação sobre o meio de cultura inoculado com a suspensão microbiana, apresentou a formação de halos de inibição do crescimento microbiano igual ou superior a 10mm de diâmetro (33, 35).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O uso de plantas medicinais pelas mais variadas comunidades em todo o mundo sempre foi significativo e relevante (17). Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostram que, pelo menos, 80% da população mundial utiliza alguma espécie de planta para melhoria ou tratamento de sinais e/ou sintomas de processos patológicos (38). Ciente desse amplo uso, há um interesse crescente pelos estudos farmacológicos, fitoquímicos,

etnofarmacológicos e toxicológicos, envolvendo plantas reconhecidas popularmente por suas propriedades terapêuticas.

A Tabela 1 registra os resultados da análise da atividade antimicrobiana dos sete óleos essenciais de plantas medicinais contra cepas de bactérias e fungos potencialmente causadores de processos infecciosos oportunistas. De uma forma geral, as cepas bacterianas mostraram-se mais resistentes à ação dos óleos essenciais do que as cepas fúngicas. Convém, entretanto, ressaltar que *Salmonella* spp. e *Listeria grayi* apresentaram resistência a todos os óleos essenciais testados. Entre as cepas fúngicas, *Candida albicans*, *Candida neoformans* e *Trichosporum inkin* mostraram destacada sensibilidade, apresentando halos de inibição com diâmetro médio de, respectivamente, 16, 13 e 14mm. Dentre todos os óleos essenciais avaliados, aqueles extraídos de *C. zeylanicum*, *L. alba* e *C. bonariensis* apresentaram maior atividade antimicrobiana quando da observação do número de cepas microbianas que tiveram seu crescimento inibido pela ação de tais produtos.

Tabela 1. Média dos halos de inibição (em mm) da CIM dos óleos essenciais de plantas medicinais sobre bactérias e fungos potencialmente causadores de processos infecciosos oportunistas.

Espécies vegetais	CIM	Cepas microbianas																	
		<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. grayi</i>	<i>L. seeligeri</i>	<i>L. weilshimeri</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. guilliermondii</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. neoformans</i>	<i>T. inkin</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. parasiticus</i>	<i>Penicillium</i> spp.	<i>G. candidum</i>	<i>Fusarium</i> spp.	<i>Rhizopus</i> spp.
<i>C. zeylanicum</i>	4%	12	-	-	-	-	10	18	14	10	10	10	15	10	-	17	24	13	18
<i>C. bonariensis</i>	4%	10	-	-	-	-	-	20	15	10	-	16	15	-	-	-	10	-	14
<i>C. citratus</i>	8%	-	-	-	-	-	-	18	-	-	-	14	13	-	-	-	10	-	10
<i>E. citriodora</i>	8%	12	-	-	-	-	-	14	-	-	-	14	17	-	-	-	-	-	-
<i>E. uniflora</i>	8%	-	-	-	-	-	-	18	-	10	-	10	12	-	-	-	-	10	-
<i>L. alba</i>	8%	17	-	12	-	14	12	12	10	-	-	10	15	-	-	18	10	-	10
<i>R. graveolens</i>	8%	-	-	-	-	-	-	12	-	10	-	20	10	-	-	-	-	17	-
Controle do microrganismo		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Controle com antimicrobiano*		21	23	20	25	24	22	21	20	18	17	22	23	18	17	18	20	21	18

-: Ausência de atividade em todas as concentrações testadas; +: Crescimento do microrganismo no meio de cultura sem adição do óleo essencial; *Cloranfenicol (30mg/mL) para cepas bacterianas e cetoconazol (50mg/mL) para cepas fúngicas.

O óleo essencial de *C. zeylanicum* apresentou uma CIM de 4%. Nessa concentração, 15 (65%) das cepas usadas nos ensaios biológicos apresentaram halos de inibição de até 24mm de diâmetro. Um fato significativo foi observado na interação desse óleo essencial com *Geotrichum candidum*: o halo de inibição formado (24mm) apresentou um diâmetro superior àquele desenvolvido diante

da ação do antifúngico padrão (20mm). A atividade antimicrobiana do óleo essencial de *C. zeylanicum* sobre *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton* foi observada por Lima et al. (33). Sá et al. (40) e Chalchat et al. (13) observaram uma sensibilidade de cepas bacterianas Gram-positivas e Gram-negativas, principalmente do gênero *Staphylococcus*, à ação do óleo essencial de *C. zeylanicum*. Esse óleo apresenta pineno, limoneno, eugenol, ácido cinâmico, felandreno, ocimeno, b-cariofileno e safrol como principais constituintes químicos (4, 32).

O óleo essencial de *C. bonariensis* apresentou uma CIM de 4%, porém sua atividade antimicrobiana foi mais observada sobre as cepas fúngicas, destacando-se a sensibilidade das cepas pertencentes ao gênero *Candida* (exceto *Candida krusei*) e *Rhizopus* spp. Ademais, todas as espécies bacterianas Gram-negativas foram resistentes ao óleo essencial de *C. bonariensis*, cujos usos medicinais e propriedades fitoquímicas e biológicas têm escassas referências na literatura. Estudos sobre o comportamento biológico de *C. bonariensis* realizados por Singh et al. (42) e por Dubey et al. (16) encontraram resistência ao gênero *Aspergillus*. Tal particularidade também ocorreu em nosso estudo, pois *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* não foram sensíveis a *C. bonariensis*, cujo óleo apresenta alguns constituintes químicos como limoneno, b-cariofileno, b-farneseno, trans-ocimeno, terpineno e 4-carieno (4, 32).

O óleo essencial de *L. alba* apresentou uma CIM de 8%, com inibição de 11 (57%) das cepas usadas nos ensaios de sensibilidade. Esse resultado parece promissor, em razão da sensibilidade de três espécies pertencentes ao gênero *Listeria* (*Listeria monocytogenes*, *Listeria seeligeri* e *Listeria weilshmneri*), e da resistência que tais microrganismos apresentam aos antibióticos. Lacoste et al. (30) estudaram as propriedades antissépticas do óleo essencial de espécies pertencentes ao gênero *Lippia* e verificaram que espécies da microbiota cutânea foram inibidas por esse óleo, enfatizando a sensibilidade apresentada por *Corynebacterium xerosis*. Fun & Svendsen (19) e Kishore et al. (25) analisaram a atividade antifúngica desse óleo essencial contra fungos leveduriformes e filamentosos, constatando que *Candida albicans*, *Trichosporum mentagrophytes*, *Absidia racemosa* e *Microsporum gypseum* foram sensíveis ao produto. Os constituintes químicos do óleo essencial de espécies de *Lippia* são citral carvona, mirceno, cariofileno e limoneno (4, 32, 37).

Os demais óleos essenciais, *C. citratus*, *E. citriodora*, *E. uniflora*, *R. officinalis* e *R. graveolens*, com uma CIM de 8%, produziram uma baixa atividade sobre os microrganismos testados, com um percentual de inibição de cerca de 25% das cepas utilizadas nos ensaios microbiológicos. As cepas sensíveis a esses produtos apresentaram halos de inibição do crescimento microbiano entre 10 e 20 mm de diâmetro.

O óleo essencial de *E. citriodora* mostrou atividade inibitória sobre o crescimento de *Staphylococcus*, *Candida*, *Trichosporon* e *Cryptococcus*. A presença de resistência das bactérias Gram-negativas, especificamente *Salmonella* e *Listeria*, a esse produto vem confirmar os resultados obtidos por Ross et al. (39), que também observaram a resistência de *Echerichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* a esse óleo. Na avaliação do poder antibacteriano e antifúngico de óleos essenciais de diversas espécies de *Eucaliptus*, Hmamouchi et al. (23) e Kumar et al. (28) observaram que as espécies bacterianas Gram-negativas sempre apresentam um comportamento de maior resistência, quando comparado ao comportamento das bactérias Gram-positivas. Esse fato está possivelmente relacionado à complexidade da estrutura de sua parede celular. O óleo essencial de *E. citriodora* possui como constituintes químicos citronelal, formato de citronelila, cineol, neotujamol, citronelal e 9-epicariofileno (4, 18, 32).

O óleo essencial de *C. citratus* mostrou atividade inibitória sobre os fungos leveduriformes e filamentosos e inibiu o crescimento de 5 (42%) das 12 cepas fúngicas testadas. Maruzella & Ligouri (36) registraram a atividade antifúngica do óleo essencial de *C. citratus* sobre *Sacharomyces. cerevisiae*, *Candida neoformans*, *Candida rhodobenhani*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus solani*, *Heminthosporum sativum*, *Mucor mucedo* e *Penicillium digitatum*. Experimentos pré-clínicos e clínicos têm comprovado a importância medicinal do óleo essencial de *C. citratus*, usado em forma de spray e creme (41, 44). Na avaliação clínica dessas formulações tópicas na terapêutica de candidíase bucal, tais estudos têm obtido resultados eficientes, por vezes similares ou superiores aos obtidos com agentes terapêuticos convencionalmente utilizados.

Os testes com o óleo essencial de *E. uniflora* evidenciaram uma ação exclusivamente antifúngica, especialmente contra *Candida albicans*, com desenvolvimento de halo de inibição do crescimento de 18mm de diâmetro. Os resultados aqui pontuados são similares aos obtidos por Adebajo et al. (1) e Sá et al. (40), que, em pesquisa envolvendo bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, observaram elevada resistência de tais microrganismos a esse óleo. Lima et al. (33) avaliaram o poder inibitório do óleo essencial de *E. uniflora* sobre cepas de dermatófitos, com uma ação eficaz na inibição do crescimento de mais de 80% das cepas testadas. O óleo essencial de *E. uniflora* tem como constituintes químicos β -selineno, cariofileno, elemeno, mirceno, β -orcimeno, terpeno, entre outros (4, 33).

Assim como a grande maioria dos óleos essenciais estudados, o óleo essencial de *R. graveolens*, da família Rutaceae, apresentou somente ação antifúngica, destacando-se a ação antileveduriforme. Dessa maneira, os resultados obtidos neste trabalho estão compatíveis com os dados obtidos por outros autores (9, 42). Tais estudos avaliaram o potencial antimicrobiano do óleo essencial de espécies pertencentes à família Rutaceae e constataram que bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos filamentosos apresentaram-se resistentes. Neste

estudo foi observada uma remarcada inibição de espécies de fungos leveduriformes, observação condizente com os dados obtidos em estudo realizado por Ayoub (6). O óleo essencial de *R. graveolens* possui como constituintes químicos pineno, limoneno, mirceno, metil-nonilcetona, salicilato de metila e limoneno (4, 32).

Com base nos aspectos abordados neste estudo, várias pesquisas podem ser desenvolvidas, com ênfase sobre o potencial biológico de espécies vegetais, especialmente de plantas de reconhecidas propriedades terapêuticas, bem como de seus derivados, como extratos, partições, óleos essenciais e constituintes químicos. Desse modo, os resultados aqui obtidos também revelam a importância do comportamento antimicrobiano dos produtos naturais, especialmente os óleos essenciais, que se apresentam como possíveis alternativas de controle do crescimento e sobrevivência de microrganismos, com redução nos danos orgânicos decorrentes de processos infecciosos.

ABSTRACT

Anti-microbial action of essential oils against microorganisms potentially causing opportunistic infections

Infectious diseases caused by microbial agents are very common in Brazil, much related to its tropical climate. Infectious diseases may occur in several localizations as skin, hairs, nails, mucous membranes, subcutaneous tissues, and other organs in humans. Treatment of bacterial and fungal infections is performed by the correction of predisposing factors and by chemical therapy. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial potential of essential oils from medicinal plants against various microbial species potentially cause of opportunistic infections, including bacterial and fungal agents. The results showed prominence to antimicrobial action of *Cinnamomum zeylanicum* Blume at 4%, *C. bonariensis* L. at 4% and *Lippia alba* N.E. Brown at 8% concentration, which inhibited the growth of, respectively, 72%, 61% and 44% of the tested strains. A microbial growth inhibition halos of diameter between 10 and 24 mm was observed.

KEYWORDS: Opportunistic microorganisms. Infections. Essential oils. Medicinal plants.

REFERÊNCIAS

1. Adebajo AC, Oloke KJ, Aladesanmi AJ. Antimicrobial activities and microbial transformation of volatile oils of *Eugenia uniflora*. *Fitoterapia* 60:451-455, 1989.
2. Allegrini J, Bouchberg MS, Maillols H. Émulsions d'huiles essentielles fabrication et applications en microbiologie. *Société de Pharmacie de Montpellier* 33:73-86, 1973.

3. Almeida, ER. *Plantas medicinais brasileiras*. São Paulo: Hemus Editora Limitada, 1993. 341 p.
4. Alonso JR. *Tratado de Fitomedicina – Bases clínicas e farmacológicas*. Buenos Aires: ISIS Ediciones S. R. L., 1998. 1039 p.
5. Alves TMA, Silva AF, Brandão M, Grandi TSM, Samânia EFA, Samânia Júnior A, Zani CL. Biological screening of brazilian medicinal plants. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95:367-373, 2000.
6. Ayoub SMH. Antibacterial and antifungal activities of some Libyan aromatic plants. *Planta Medica* 56:644-645, 1990.
7. Belém LF. *Estudo epidemiológico da pitiríase versicolor no Estado da Paraíba e avaliação química e antifúngica de produtos naturais e sintéticos contra seu agente etiológico*. João Pessoa, 178 p. [Tese de Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos - Laboratório de Tecnologia Farmacêutica – UFPB], 2002.
8. Benoudia A, Hassar M, Benjilali B. Les propriétés antiseptiques des huiles essentielles *in vitro*, testées contre des germes pathogenes hospitalieres. *Fitoterapia* 59:115-119, 1988.
9. Boatto G, Pintore G, Palomba M, Simone F, Raimundo E, Iodice G. Composition and antibacterial activity of *Inula Heleum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Fitoterapia* 6:279-280, 1994.
10. Boyce JM. Increasing prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the United States. *Infect Cont. Hosp Ep* 11:639-642, 1990.
11. Carmo CMF, Lima EO, Milan EP. Atividade antifúngica de extratos de óleos essenciais contra *Candida albicans* isolada de pacientes com AIDS. *Rev Bras Farm* 79:108-111, 1998.
12. Casals JB. Tablet sensitivity testing of pathogenic fungi. *J Clin Pathol* 32:719-722, 1979.
13. Chalchat JC, Garry RP, Bstide P, Fabre F, Malhuret R. Corrélation chimique/activité antimicrobienne: V – Contribution a la comparaison de 2 méthodes de détermination des CMI. *Plantes medic Phytother* 25:184-193, 1991.
14. Cleeland R, Squires E. Evaluation of new antimicrobials *in vitro* and experimental animal infections. In : Lorian, V M D. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Williams & Wilkins, 1991, p. 739-788.
15. Craveiro AA, Fernandes AG, Andrade CHS, Matos FJA, Alencar JW, Machado MIL. *Óleos essenciais de plantas do Nordeste*. Fortaleza: Edições UFC. 1981. 209 p.
16. Dubey N, Dixit S, Bhargava K. Evaluation of leaf extracts of higher plants against some storage fungi. *Ind J Botany* 5:20-22, 1982.
17. Dubey NK, Tripathi P, Singh HB. Prospects of some essential oils as antifungal agents. *J Med Aromat Plant Sci* 22:380-354, 2000.
18. Estanislau AA, Barros FAZ, Peña AP, Santos SC, Ferri PH, Paula JR. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies de *Eucalyptus* cultivadas em Goiás. *Rev Bras Farmacol* 11:95-100, 2001.
19. Fun CE, Svendsen AB. The essential of *Lippia alba* (Mill.) N. E. BR. *J Essent Oil Res* 2:265-267, 1990.
20. Hadacek F, Greger H. Testing of antifungal natural products : methodologies, comparability of results and assay choice. *Phytochem Analysis* 11:137-147, 2000.
21. Hay RI. Ketoconazole in the treatment of fungal infection : clinical and laboratory studies. *Am J Med* 74:16-19, 1983.
22. Hazen HC. New and emerging yeast pathogens. *Clin Microbiol* 8:462-478, 1995.
23. Hmamouchi M, Tantaqui-Elaraki A, Es-Safi N, Agoumi A. Mise em évidence des propriétés antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles d' *Eucalyptus*. *Plantes Medic Phytot* 24:278-289, 1990.

24. Hoog GS, Guarro J. *Atlas of Clinical Fungi*. Reus: Universitat Rovira i Virgili. 1995.
25. Kishore N, Mishara AK, Chansouria JPN. Fungitoxicity of some volatile natural products against human pathogenic fungi. *Indian perfum* 25:1-3, 1981.
26. Koneman EW, Alen SD, Janda WM, Schrenkenberger PC, Winn Jr. WC. *Diagnostic Microbiology – Color Atlas and Textbook*. 5th ed. Linppincot, 1997.
27. Kreger Van-Rij, NIW. *The yeasts: a taxonomic study*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1984.
28. Kumar A, Sharma VD, Singh AK, Singh K. Antibacterial properties of different *Eucalyptus* oils. *Fitoterapia* 59:141-144, 1988.
29. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC. *Micologia médica*. São Paulo: Saraiva, 1991.
30. Lacoste E, Chaumont JP, Mandin D, Plunol MM, Matos FJA. Les propriétés antiseptiques de l'huile essentielle de *Lippia sidoides* Cham. Application à la microflora cutanée. *Ann Pharmac françaises* 54:228-230, 1996.
31. Larone DH. *Medically important fungi*. 3rd. edition. Washington: ASM Press, 1995.
32. Lavabre M. *Aromaterapia: a cura pelos óleos essenciais*. Rio de Janeiro, Editora Record, 1990. 172 p.
33. Lima EO, Farias NMP. Atividade antifúngica de óleos essenciais obtidos de plantas medicinais contra leveduras do gênero *Candida*. *Rev Bras Cien Saúde* 3:51-64, 1999.
34. Lima EO, Gompertz OF, Giesbrecht AM, Paulo MQ. "In vitro" antifungal activity of essential oils obtained from officinal plants against dermatophytes. *Mycoses* 36:333-336, 1993.
35. McFaddin JF. *Biochemical tests for identification of medical bacteria*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1980.
36. Maruzella JC, Ligouri L. The "in vitro" antifungal activity of essential oils. *J Amer Pharm Ars* 47:250-254, 1958.
37. Matos FJA, Machado MIL, Craveiro AA, Alencar JWE. Essential oil composition of two chemotypes of *Lippia alba* grown in northeast Brazil. *J Essent Oil Res* 8:695-698, 1996.
38. Matos FJA. *Farmácias vivas*, Fortaleza: EUFC, 1994. 180 p.
39. Ross SA, El-Keltawi NE, Megalla SE. Antimicrobial activity of some Egyptian aromatic plants. *Fitoterapia* 51:201-206, 1980.
40. Sá LD, Paulo MQ, Lima EO, Xavier Filho L. Activité antimicrobienne d'huiles essentielles sin les bacteries qui causent la conjunctivite. *Bol Soc Bot* 2:99-103, 1995.
41. Santos RC, Lima EO, Carvalho MFFP, Paulo MQ, Queiroz MVF. Candidíase relacionada ao uso de prótese dentária e ação de *Cymbopogon citratus* D. C. Staf (capim-santo). *Anais ... XVI Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil*. Recife, PE, 2000.
42. Singh S, Dube N, Tripathi S, Singh SK. Fungi of toxicity of some essential oils against *Aspergillus flavus*. *Indian Perfum* 28:164-166, 1984.
43. Vieira LS. *Fitoterapia da Amazônia: Manual de plantas medicinais*. 2 ed. São Paulo: Agrônômico Ceres, 1992. 347 p.
44. Wannissorn B, Jarikasem S, Soontornanasart T. Antifungal activity of lemon grass oil and lemon grass oil cream. *Phytoth Res* 10:551-554, 1996.