

Atividade Antibacteriana *In Vitro* de Fitoconstituintes Sobre Micorganismos do Biofilme Dentário

In Vitro Antibacterial Activity of Phytochemicals on Dental Biofilm Microorganisms

LOUISE MORAIS DORNELAS BEZERRA¹
GABRIELA LACET SILVA FERREIRA¹
INGRID CARLA GUEDES DA SILVA¹
RICARDO DIAS DE CASTRO²

RESUMO

Objetivo: Avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana do citronelol, linalol, timol e D-limoneno frente a *Streptococcus mutans*, *S. salivarius* e *S. oralis*. **Material e Métodos:** Realizou-se um *screening* pela técnica de difusão em meio sólido. Discos de papel absorvente foram embebidos com 30 µL da substância-teste e dispostos em placas de Petri contendo Ágar Müeller Hinton previamente semeadas com inóculo bacteriano. Após incubação por 24h a 37°C, foi realizada a mensuração dos halos de inibição do crescimento bacteriano com auxílio de um paquímetro manual. A clorexidina 2% foi utilizada como controle positivo. O estudo foi realizado em triplicata. **Resultados:** O citronelol obteve média do diâmetro dos halos, em milímetros (mm), para *S. mutans*, *S. oralis* e *S. salivarius*, respectivamente: 10.7, 10.0 e 9.8. O timol, para a mesma sequência de microorganismos: 7.3, 7.3 e 8.3 mm. O D-limoneno exibiu médias de 8.0, 6.7 e 6.0 mm para *S. mutans*, *S. oralis* e *S. salivarius*, respectivamente. Mensurou-se médias dos halos de 8.0, 9.0 e 8.2 mm, para os mesmos microorganismos, quando testado o linalol. A clorexidina, por sua vez, apresentou média dos diâmetros dos halos de 17 mm para *S. mutans*, 16.8 mm para *S. oralis* e 19.7 mm para *S. salivarius*. **Conclusão:** Os produtos avaliados apresentaram atividade antibacteriana, representando possíveis substâncias com aplicabilidade na prevenção da cárie dentária.

DESCRIPTORIOS

Agentes Biológicos. *Streptococcus mutans*. *Streptococcus oralis*.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the *in vitro* antibacterial activity of citronellol, linalool, thymol, and D-limonene against *Streptococcus mutans*, *S. salivarius* and *S. oralis*. **Material and Methods:** It was performed a screening by the diffusion technique on solid medium. Absorbent paper discs were soaked with 30 µl of the tested substance and then placed on petri dishes containing Mueller Hinton agar previously sown with the bacterial inoculum. After incubation for 24 h at 37 °C, it was measured the halo of growth inhibition with the aid of a manual caliper. Chlorhexidine (2%) was used as positive control. Tests were performed in triplicate. **Results:** For citronellol, the means of the diameters of the halos, in millimeters (mm), were 10.7, 10.0, and 9.8 against *S. mutans*, *S. salivarius* and *S. oralis* respectively. The values found for thymol were 7.3, 7.3 and 8.3 mm, respectively. The phytochemical D-limonene exhibited means of 8.0, 6.7 and 6.0 mm, respectively. For linalool, the means of the halos were 8.0 mm, 9.0 mm and 8.2 mm. Chlorhexidine was found to show means of 17, 16.8 and 19.7 mm on *S. mutans*, *S. oralis* and *S. salivarius* respectively. **Conclusion:** The products under test showed antibacterial activity, being therefore potential substances to be applied for dental caries prevention.

DESCRIPTORS

Biological Agents. *Streptococcus mutans*. *Streptococcus oralis*.

1 Graduanda em Odontologia pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa/PB, Brasil.

2 Professor Adjunto do Departamento de Clínica e Odontologia Social da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa/PB, Brasil.

O biofilme dental, do ponto de vista biológico, é o fator de maior importância na etiologia da cárie e das doenças periodontais, e a higiene bucal deficiente está diretamente relacionada a esta condição. A remoção mecânica desse biofilme ainda é a forma mais segura para a conservação de níveis adequados de higiene oral, mas o uso de coadjuvantes químicos é bastante válido (ALVES *et al.*, 2009, SILVA *et al.*, 2008).

Muitos microrganismos do biofilme dental estão associados à cárie. Entretanto, algumas bactérias são muito mais ativas que outras. *Streptococcus mutans* é um dos microrganismos orais mais relacionados ao desenvolvimento da cárie. Acredita-se que *S. mutans* esteja envolvido com o desenvolvimento inicial da mesma por ser capaz de colonizar os dentes, produzir polissacarídeos intra e extracelulares, ser altamente acidogênico e acidúrico, além de metabolizar várias glicoproteínas salivares (NOGUEIRA *et al.*, 2007). Os *Streptococcus oralis* e *Streptococcus salivarius* também são comumente encontrados nesse biofilme e contribuem para tornar o meio mais adequado para colonização do *S. mutans*, porém, não atuam diretamente na desmineralização do esmalte dentário, já que não são acidúricos nem acidogênicos (ALVES *et al.*, 2010). A capacidade de adesão do *S. mutans* está relacionada à sua patogenicidade e, portanto, métodos mecânicos e químicos, como a utilização de agentes antimicrobianos, têm sido estudados (FREIRES *et al.*, 2010).

Atualmente, o gluconato de clorexidina tem sido amplamente utilizado na clínica odontológica, visto a eficácia comprovada na remoção química do biofilme dental. Contudo, o mesmo possui limitações, tais como manchamento dentário, alteração de paladar e desequilíbrio da microbiota, o que tem impulsionado investigações para descoberta de outros agentes químicos, incluindo os de origem natural (FREIRES *et al.*, 2010).

Além disso, a resistência dos microrganismos e o desequilíbrio da comunidade microbiana (ANTUNES *et al.*, 2006) vêm aumentando em função do uso indiscriminado de antimicrobianos utilizados no tratamento de doenças infecciosas. Essa situação tem impulsionado investigadores a estudarem novas substâncias antimicrobianas de várias fontes, incluindo das plantas medicinais (BANSOD, RAI, 2008).

Diante desse contexto, os produtos de origem natural, especialmente os obtidos a partir das plantas, por apresentarem grande diversidade de atividade biológica, surgem como alternativa promissora, considerando a necessidade de prevenção e remoção do biofilme dental. Além disso, esses produtos possuem grande importância econômica, visto que possuem custo relativamente baixo e representam parte

integrante da cultura popular, facilitando sua utilização pela população. Neste cenário, o Brasil destaca-se por possuir uma grande biodiversidade vegetal e aspectos culturais que consideram as plantas medicinais para tratamento e prevenção de doenças.

Do ponto de vista da diversidade molecular, sabe-se que os produtos naturais são bastante diversificados, o que representa novas possibilidades de investigação e descoberta de atividades biológicas favoráveis ao tratamento e prevenção de doenças (NISBET, MOORE, 1997). Os óleos essenciais, por exemplo, são produtos que apresentam destacada diversidade em sua composição química. Eles são produtos do metabolismo secundário das plantas e, quimicamente, são derivados de fenilpropanóides ou de terpenóides, sendo este último majoritário e estando os monoterpenos e sesquiterpenos entre os mais frequentes. É importante ressaltar que variações nas composições dos óleos essenciais são observadas dependendo do estágio de desenvolvimento da planta, sua origem ou ainda da parte da planta utilizada (SIMÕES *et al.*, 2007, ANTUNES *et al.*, 2006). Alguns extratos de plantas e metabólitos secundários possuem efeitos inibitórios e letais dose-dependentes sobre diferentes microrganismos (SMITH-PALMER, STEWART, FYFE, 1998). Dentre as substâncias extraídas, tomam destaque os óleos voláteis, que em sua maioria evidenciam forte atividade antibacteriana e antifúngica, atribuídas à presença de monoterpenos (POZZATI, 2007).

A partir de extratos de plantas são identificados os fitoconstituintes, que são pequenas biomoléculas orgânicas (LIMA *et al.*, 2005) estudadas por apresentarem perspectivas positivas, representando possibilidades de obtenção de novos fármacos que sejam utilizados no tratamento contra agentes infecciosos ou outras doenças. A literatura cita o linalol (LUZ *et al.*, 2009), D-limoneno (SCHUCK *et al.*, 2001), citronelol (CASTRO *et al.*, 2010) e timol (BOTELHO *et al.*, 2007) dentre inúmeras substâncias obtidas de plantas medicinais, como fitoconstituintes potencialmente antimicrobianos.

O timol é um terpeno, composto fenólico monocíclico, presente no óleo essencial de *Thymus vulgaris* (Lamiaceae), tomilho e alecrim-pimenta. Estudos relatam que o timol possui propriedades antiinflamatórias, antioxidantes, antimicrobianas, anti-sépticas e cicatrizante, tendo como principal aplicação terapêutica o uso em preparações dentárias nas quais atua, portanto, como bactericida (BOTELHO *et al.*, 2007, PRIESTLEY *et al.*, 2003). É uma substância pouco solúvel em água, com pH neutro, mas muito solúvel em álcool e outros solventes orgânicos. Estudos demonstram que terpenos

possuem um amplo espectro de atividade biológica e são utilizados no tratamento de várias doenças, razão que o torna uma fonte de moléculas promissoras (SANCHEZ *et al.*, 2009).

O linalol, por sua vez, é um monoterpeneo muito utilizado na indústria de perfumaria, cosmética e culinária, cujo ponto de ebulição é de 199 °C e a solubilidade em água está em torno dos 1,5 g/L. Por estar presente no óleo de manjerição, tem sido usado como composto de partida para várias sínteses importantes, como a do acetato de linalila. É utilizado com sucesso como sedativo e suas propriedades anticonvulsivas, hipnóticas, hipotérmicas e efeito depressor do sistema nervoso central estão sendo analisadas, assim como as propriedades acaricida, bactericida e fungicida. Sendo assim, faz-se necessária a realização de mais estudos referentes às suas propriedades (JULIÃO *et al.*, 2003, LUZ *et al.*, 2009).

O D-limoneno é um monoterpeneo largamente disperso na natureza, principalmente nas cascas dos frutos cítricos (VALLILO, BUSTILLOS, AGUIAR, 2006). Foi verificada atividade antimicrobiana do limoneno, em estudo anterior, sobre cepas de *C. albicans*, *E. coli* e *S. aureus* (SCHUCK *et al.*, 2001).

O citronelol ou dihydrogeraniol é um monoterpeneo acíclico encontrado no óleo essencial de citronela, extraído abundantemente do *Cymbopogon nardus*. A literatura relata atividade inseticida e bacteriostática dessa substância (CASTRO *et al.*, 2010, ORDÓÑEZ *et al.*, 2004). Isto posto, este estudo objetivou analisar a atividade antimicrobiana dos fitoconstituintes timol, linalol, citronelol e D-limoneno sobre *S. mutans*, *S. oralis* e *S. salivarius*, adotando como referencial o método de difusão em ágar proposto por BAUER, KIRBY, TURCK, (1966).

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se uma abordagem indutiva, com procedimento comparativo-descritivo e técnica de pesquisa por documentação direta em laboratório (LAKATOS, MARCONI, 2010).

Os ensaios microbiológicos foram realizados no Laboratório de Microbiologia Oral do Núcleo de Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, que disponibilizou as cepas de *S. mutans* ATCC 25175, *S. oralis* ATCC 10557 e *S. salivarius* ATCC 7073.

O timol, linalol, citronelol e D-limoneno foram obtidos na Quinari®, que produz e comercializa óleos essenciais e seus derivados em escala industrial. A indústria forneceu laudo com informações técnicas dos produtos. Utilizou-se como controle positivo, ou droga padrão, a clorexidina, adquirida em farmácia de manipulação do município de João Pessoa, Paraíba, Brasil. O Quadro 1 apresenta a densidade em g/mL e o lote dos fitoconstituintes em estudo.

Foi realizado um *screening* através da técnica de difusão em meio sólido, como proposto por BAUER, KIRBY, TURCK, (1966). Em placas de Petri (CITOTEST®) contendo meio de cultura Agar Müller Hinton - MHA (Himedia®) semeou-se 50 µL de inóculo bacteriano preparado em solução salina de acordo com a turvação 0,5 da escala nefelométrica de Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹) com cepas de *S. mutans*, *S. oralis* e *S. salivarius*. Discos de papel absorvente de 6 milímetros (mm) de diâmetro, previamente esterilizados, foram embebidos com 30 µL da solução de timol 10.000 µg/mL e do citronelol, linalol, D-limoneno nas concentrações de 850.000 µg/mL, 850.000 µg/mL e 840.000 µg/mL, respectivamente. A solução do timol foi preparada

Quadro 1: Densidade em g/mL e lote dos fitoconstituintes timol, linalol, citronelol e D-limoneno.

	Densidade	Lote
Timol	0,99	02235
Linalol	0,85	02235
Citronelol	0,85	02235
D- Limoneno	0,84	02235

utilizando-se o álcool 70° como solvente e o mesmo foi testado isoladamente a fim de descartar a hipótese da interferência do solvente na atividade antibacteriana do fitoconstituente. A clorexidina 2% foi utilizada como controle positivo. Em seguida, os discos foram dispostos sobre o MHA. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica por 24h a 37°C e, no caso do *S. mutans*, em microaerofilia. O estudo foi realizado em triplicata. Os dados foram obtidos através da mensuração do diâmetro dos halos de inibição de crescimento bacteriano com auxílio de um paquímetro manual, sendo os resultados expressos pela média dos valores das triplicatas.

RESULTADOS

Verificou-se que as linhagens bacterianas de *S. mutans*, *S. oralis* e *S. salivarius* mostraram-se susceptíveis à ação dos fitoconstituintes linalol, citrônolol, D- Limoneno, nas concentrações utilizadas.

Os resultados da atividade antibacteriana *in vitro* estão expostos na Tabela 1.

DISCUSSÃO

O Brasil possui grande potencial para o desenvolvimento de produtos naturais aplicados à prevenção e tratamento de doenças, inclusive na área da Odontologia, já que apresenta a maior diversidade vegetal do mundo, o uso de plantas medicinais vinculado ao conhecimento tradicional e tecnologia para validar cientificamente este conhecimento (ALBUQUERQUE, HANAZAKI, 2006). A pesquisa em fitoterapia aplicada à Odontologia é relevante não apenas por representar uma relação custo-benefício mais vantajosa para a população, mas também pela facilidade e disponibilidade com que elas são encontradas.

O timol apresentou média dos halos de inibição

do crescimento bacteriano de 7.3, 7.3 e 8.3 mm para *S. mutans*, *S. oralis* e *S. salivarius*, respectivamente, corroborando a literatura (BOTELHO *et al.*, 2007, PRISTLEY *et al.*, 2003) que cita a atividade antimicrobiana deste fitoconstituente.

HAIDA *et al.*, (2007) sugerem que o óleo essencial obtido da *Cymbopogon citratus*, planta que tem como um dos componentes químicos o citrônolol, possui atividade antibacterina frente cerca de 20 espécies de bactérias. Em estudo realizado por SCHUCK *et al.*, (2001), os autores constataram que o óleo de *Cymbopogon citratus* apresenta atividade antimicrobiana para diversos microorganismos, dentre os quais pode-se citar o *Staphylococcus aureus*. Os resultados alcançados neste estudo referentes à atividade antibacteriana do citrônolol estão de acordo com os estudos citados, apresentando média dos diâmetros dos halos de 10.7 mm para *S. mutans*, 10 mm para *S. oralis* e 9.8 mm para *S. salivarius*.

Os resultados deste estudo concordam com os obtidos por SCHUCK *et al.*, (2001) que verificaram, a partir do método de difusão em meio sólido, atividade antimicrobiana do D-limoneno sobre cepas de *C. albicans*, *E. coli* e *S. aureus*, considerados microrganismos resistentes aos antimicrobianos sintéticos disponíveis. O presente estudo obteve médias dos diâmetros dos halos correspondentes a 8.0, 6.7 e 6.0 mm para *S. mutans*, *S. oralis* e *S. salivarius*, respectivamente.

O linalol tem sido utilizado com sucesso como sedativo e suas propriedades bactericida e fungicida estão sendo estudadas (JULIÃO *et al.*, 2003, LUZ *et al.*, 2009). Os resultados deste estudo exibiram atividade antibacteriana, apresentando como médias dos diâmetros dos halos das triplicatas, 8.0 mm para *S. mutans*, 9.0 mm para *S. oralis* e 8.2 mm para *S. salivarius*.

O álcool 70° não foi capaz de inibir o crescimento bacteriano, comprovando que a atividade antimicrobiana da solução de timol não sofreu interferência pela adição do álcool. A clorexidina 2% apresentou

Tabela 1. Média, em mm, do diâmetro dos halos de inibição do crescimento bacteriano dos fitoconstituintes timol 10.000 µg/mL, linalol 850000 µg/mL, citrônolol 850000 µg/mL e D- Limoneno 840000 µg/mL, clorexidina 2% e álcool 70° frente a *S. mutans*, *S. oralis* e *S. salivarius*.

Substância testada	<i>S. mutans</i>	<i>S. oralis</i>	<i>S. salivarius</i>
Timol	7,3	7,3	8,3
Linalol	8,0	9,0	8,2
Citrônolol	10,7	10,0	9,8
D- Limoneno	8,0	6,7	6,0
Clorexidina 2%	17,0	16,8	19,7
Álcool 70°	0,0	0,0	0,0

atividade antimicrobiana, como esperado, tendo como média dos diâmetros dos halos 17.0 mm para *S. mutans*, 16.8 mm para *S. oralis* e 19.7 mm para *S. salivarius*.

Acredita-se que, apesar do método de difusão em ágar ser criticado quando se faz uso de óleos voláteis, visto a natureza hidrofóbica dos óleos e a consequente dificuldade de difusão, a técnica é válida na determinação da atividade antimicrobiana devido à elevada volatilidade dos mesmos, que contribui na formação do halo de inibição (OLIVEIRA *et al.*, 2011, INOUE *et al.*, 2006). Ressalta-se que este estudo representa uma avaliação inicial para determinação da atividade antibacteriana dos óleos essenciais, sendo, portanto, necessário o desenvolvimento de outros ensaios pré-clínicos, que incluem a determinação de concentrações bactericida e bacteriostática, avaliação da curva de morte microbiana, além do desenvolvimento de estudos sobre

o possível mecanismo de ação e propriedades toxicológicas. É imprescindível considerar a realização de outros ensaios para determinação da atividade antibacteriana dos produtos avaliados (CASTRO *et al.*, 2010).

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, foi possível observar o potencial antibacteriano dos fitoconstituintes avaliados, pois estes, *in vitro*, inibiram o crescimento dos microrganismos testados. Dentre os fitoconstituintes avaliados destaca-se o timol e o citronelol, representando uma possível aplicação destes produtos na prevenção e tratamento da cárie dentária.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE UP, HANAZAKI N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16 (Supl.): 678-689, 2006.
- ALVES PM, QUEIROZ LMG, PEREIRA JV, PEREIRAMS V. Atividade antimicrobiana, antiaderente e antifúngica *in vitro* de plantas medicinais brasileiras sobre microrganismos do biofilme dental e cepas do gênero *Candida*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 42(2): 222-224, 2009.
- ALVES TMS, SILVA CA, SILVA NB, MEDEIROS EB, VALENÇA AMG. Atividade antimicrobiana de produtos fluoretados sobre bactérias formadoras do biofilme dentário: estudo *in vitro*. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*, 10(2): 209-216, 2010.
- ANTUNES RMP, LIMA EO, PEREIRAMS V, CAMARA CA, ARRUDA TA, CATÃO RMR, BARBOSA TP, NUNES XP, DIAS CS, SILVA TMS. Atividade antimicrobiana "in vitro" e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16(4): 517-524, 2006.
- BANSOD S, RAI M. Antifungal activity of essential oils from Indian medicinal plants against human pathogenic *Aspergillus fumigatus* and *A. niger*. *World Journal of Medical Sciences*, 3(2): 81-88, 2008.
- BAUER AWMM, KIRBY JC, TURCK M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(3): 493-496, 1966.
- BOTELHO MA, NOGUEIRANAP, BASTOS GM, FONSECA SGC, LEMOS TLG, MATOS FJA, MONTENEGRO D, HEUKELBACH J, RAO VS, BRITO GAC. In Vitro and In Vivo Cytotoxicities and Antileishmanial Activities of Thymol and Hemisynthetic Derivatives. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40(3): 349-356, 2007.
- CASTRO RD, FREIRES IAF, FERREIRADAH, JOVITO VC, PAULO MQ. Atividade antibacteriana *in vitro* de produtos naturais sobre *Lactobacillus casei*. *International Journal of Dentistry*, 9(2): 74-77, 2010.
- CASTRO HG, PERINI VBM, SANTOS GR, LEAL TCA. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. *Revista Ciência Agronômica*, 41(2): 308-314, 2010.
- FREIRES IA, ALVES LA, JOVITO VC, ALMEIDA LFD, CASTRO RD, PADILHA WWN. Atividades antibacteriana e antiaderente *in vitro* de tinturas de *Schinusterebinthinifolius* (Aroeira) e *Solidagomicroglossa* (Arnica) frente a bactérias formadoras do biofilme dentário. *Revista Odontologia Clínico Científica*, 9(2): 139-143, 2010.
- INOUE S, UCHIDA K, MARUYAMA N, YAMAGUCHI H, ABE S. A novel method to estimate the contribution of the vapor activity of essential oils in agar diffusion assay. *Japanese Journal of Medical Mycology*, 27(2): 91-98, 2006.
- HAIDA KS, PARZIANELLO L, WERNER S, GARCIA DR, INÁCIO CV. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais. *Arquivos de Ciências da Saúde da Unipar*, 11(3): 185-192, 2007.
- JULIÃO LS, TAVARES ES, LAGE CLS, LEITÃO SG. Cromatografia em camada fina de extratos de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill) N.E.Br. (erva-cidreira). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 13(Supl.): 36-38, 2003.
- LAKATOS EM, MARCONI MA. *Fundamentos de metodologia científica*, 5ª edição, São Paulo: Atlas, 2003. 312 p.
- LIMA IO, OLIVEIRA RAG, LIMA EO, SOUZA EL, FARIAS NP, NAVARRO DF. Inhibitory effect of some phytochemicals in the growth of yeasts potentially causing opportunistic infections. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 41(2): 199-203, 2005.

16. LUZ JMQ, MORAIS TPS, BLANK A F, SODRÉ ACB, OLIVEIRA GS. Teor, rendimento e composição química do óleo essencial de manjeriço sob doses de cama de frango. *Horticultura Brasileira*, 27(3): 349-353, 2009.
17. NISBET LJ, MOORE M. Will natural products remain an important source of drug research for the future? *Current Opinion in Biotechnology*, 8(6): 708-712, 1997.
18. NOGUEIRA MA, DIAZ MG, TAGAMI PM, LORSCHIDE J. Atividade microbiana de óleos essenciais e extratos de própolis sobre bactérias cariogênicas. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 28(1): 93-97, 2007.
19. OLIVEIRA MMM, BRUGNERA DF, CARDOSO MG, GUIMARÃES LGL, PICCOLI RH. Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos essenciais de espécies de *Cymbopogon*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 13(1): 8-16, 2011.
20. ORDÓÑEZ MG, JORGE MR, SIMÓN GG, RANGEL CL. Actividad antimicrobiana Del aceite esencial y crema de *Cymbopogon citratus* (DC). *Stapf. Rev Cubana Plant Med*, 9(2): 0-0, 2004.
21. POZZATTI P. Susceptibilidade de *Candida* spp. sensíveis e resistentes ao fluconazol frente a óleos essenciais extraídos de condimentos. [Dissertação de Mestrado]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2007. 146 p.
22. PRIESTLEY CM, WILLIAMSON EM, WAFFORD KA, SATTELLE DB. Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABAA receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. *British Journal of Pharmacology*, 140(8): 1363-1372, 2003.
23. SANCHEZ B, GABRIEL J, MARTINEZ M, JAIRO R, STASHENKO E. Actividad antimicrobacteriana de terpenos/ Antimycobacterial activity of terpenes. *Revista de la Universidad Industrial de Santander*, 41(3): 231-243, 2009.
24. SCHUCK VEJA, FRATINI M, RAUBER CS, HENRIQUES A, SCHAPOVAL EES. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus*. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 37(1): 45-49, 2001.
25. SILVA MAS, SILVA MAR, HIGINO JS, PEREIRA MSV, CARVALHO AATC. Atividade antimicrobiana e antiaderente *in vitro* do extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn. sobre bactérias orais planctônicas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18(2): 236-240, 2008.
26. SIMÕES CMO, SCHENKELEP, GOSMANN G, MELLO JCP, MENTZ LA PETROVICK PR. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 6. ed., Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2007. 1102p.
27. 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*, 26(2): 118-122, 1998.
28. VALLILO M, BUSTILLOS OV, AGUIAR OT. Identificação de terpenos no óleo essencial dos frutos de *Campomanesia adamantium* (cambessédes) O. Berg – Myrtaceae. *Revista do Instituto Florestal*, 18(1): 15-22, 2006.

Correspondência

Ricardo Dias de Castro
 Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências da Saúde - Campus I, Departamento de Fonoaudiologia.
 Cidade Universitária
 58000-000 - Joao Pessoa, PB - Brasil