

**FORMULAÇÃO DE UM GEL COM PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS Á
BASE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Calêndula Officinalis* e *Carapa
Guianensis*.**

Rayanna Fábila Leite Alves¹; Risonildo Pereira Cordeiro¹

¹ Laboratório de Fitoterapia, Associação Caruaruense de Ensino Superior e Técnico (ASCES), Caruaru, PE.

*Correspondência: Rayanna Fábila Leite Alves

Faculdade ASCES - Avenida Portugal, 584, Bairro Universitário

CEP 55016-400 - Caruaru (PE) – Brasil

E-mail: rayanna_fabia@hotmail.com

RESUMO: A disseminação do uso de plantas medicinais para o desenvolvimento de novos fármacos, especialmente antimicrobianos, tem se mostrado uma alternativa frente ao cenário atual, frente a isso, surgiu o interesse pelo estudo da espécie *Calêndula Officinalis* e *Carapa Guianensis*. Este trabalho teve como objetivo produzir um gel a base dos óleos essenciais de *Calêndula Officinalis* e *Carapa Guianensis* com atividade antimicrobiana. Sendo um estudo laboratorial experimental – observacional, através da produção de um gel. A atividade antimicrobiana foi determinada pela técnica de Pour-Plate. A formulação dos dois óleos essenciais, já citados, apresentou um baixo rendimento antimicrobiano frente a : *Candida ATCC 76615* (15%), *E.Coli sp.* (11%), *Salmonella sp.* (13%) e *S. aureus ATCC 3613* (14%). Concluiu-se que a formulação apresenta um baixo potencial de atividade antimicrobiana, não sendo indicado como produto antimicrobiano.

ABSTRACT: The widespread use of medicinal plants for the development of new drugs, especially antibiotics, has become an alternative front to the current scenario, in front of this arose the interest in the study of the species *Calendula Officinalis* and *Carapa Guianensis*. This study aimed to produce a gel base of essential oils of *Calendula Officinalis* and *Carapa Guianensis* with antimicrobial activity. As an experimental laboratory study - observational through the production of a gel. The antimicrobial activity was determined by the technique

of Pour-Plate. The formulation of the two essential oils, cited above, showed a low antimicrobial performance against *Candida ATCC 76615* (15%), *E.coli sp.* (11%), *Salmonella sp.* (13%) and *S. aureus ATCC 3613* (14%). It was concluded that the formulation has a low potential for antimicrobial activity, not being indicated as an antimicrobial product.

INTRODUÇÃO

A utilização terapêutica de extratos vegetais ou princípios ativos deles extraídos é chamada de fitoterapia. Esta forma terapêutica vem desde os primórdios da humanidade, mas não se sabe ao certo quando realmente iniciou (MARTINS et al., 2000). O alto custo financeiro e o elevado número de efeitos colaterais dos medicamentos de síntese têm nos levado a adotar uma medicina mais racional, aonde as orientações gerais (dietéticas, exercícios físicos, técnicas de relaxamento, qualidade de vida, etc.) e as terapêuticas menos agressivas, vem ocupando cada vez mais espaço nas prescrições médicas. (PROTOCOLO FITOTERAPIA).

Sabe-se que a maior parte dos produtos farmacêuticos foi desenvolvida a partir dos produtos naturais. Contudo, estima-se que das 300 mil espécies de plantas no mundo, apenas 15% delas tenham sido submetidas a algum estudo científico para avaliar suas potencialidades na preparação de novos produtos (BRANDÃO, 2004).

Concomitante a isso, é sabido que a evolução no desenvolvimento de fármacos antimicrobianos trouxe também a crescente resistência bacteriana. Com o surgimento de uma segunda idade de ouro de antimicrobianos na década de 1980, liderada por cefalosporinas de terceira geração, carbapenêmicos, monobactamas e as fluoroquinolonas, muitos cientistas chegaram a declarar que a luta contra as doenças infecciosas foi vencida, no entanto, 30 anos depois, a situação das doenças infecciosas no planeta é cada vez mais preocupante, sendo a principal causa de morte no mundo (GARCIA, 2011).

A disseminação do uso de plantas medicinais para o desenvolvimento de novos fármacos, especialmente antimicrobianos, tem se mostrado uma

alternativa frente ao cenário atual, principalmente na atenção básica à saúde, de forma preventiva. Em 2009, o Ministério da Saúde (MS) divulgou uma lista contendo 71 plantas medicinais que podem ser utilizadas pelo Sistema Único de Saúde (SUS), a Rennisus: Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (ANVISA, 2009).

A *C. Officinalis* está inclusa como planta medicinal no projeto de fitoterapia que está sendo implantado no Sistema Único de Saúde (SUS) de todo o Brasil. A planta faz parte da família *Asteraceae* (*Compositae*), popularmente dita como calêndula, encontrada em todo o país por ser muito comum, e muito utilizada na medicina popular. Dentre as propriedades medicinais da calêndula estão às ações: cicatrizantes, reepitelizadoras, anti-inflamatório, antitumorígenas, citotóxicas, e antissépticas, a planta atua externamente no organismo evitando infecções em ferimentos, escoriações e dermatites ocasionadas pela radioterapia e internamente ela atua na prevenção de inflamações glandulares e vasculares, analgésica, antiviral, vasodilatadora e tonificante a pele, dentre estes benefícios ela é utilizada como planta ornamental e corante industrial. (GAZOLA et al, 2014)

Durante séculos tem-se buscado nas plantas medicinais alternativas para o tratamento de diversas doenças dermatológicas (RASKIN et al.,2002), principalmente naquelas que apresentam processos cicatriciais de difícil resolução. (Hsu, 2005). A calêndula tem sido usada rotineiramente em aplicações tópicas, tanto em cosmetologia como em dermatologia (Hamburguer et al., 2003). Entre as suas atribuições terapêuticas mais difundidas estão a reepitelização e cicatrização de feridas (ALONSO, 1998), sendo ainda utilizadas em equimoses, erupções e em outras lesões da pele. A medicina popular européia recomenda seu uso no tratamento de eczemas (BROWN & DATTNER, 1998).

A atividade antiinflamatória da calêndula foi anteriormente evidenciada em camundongos por Della- Logglia et al. (1990) utilizando modelos de indução de edema de orelha por óleo de cróton e de edema de pata por carragenina. Esses testes avaliam substâncias que apresentam atividade sobre os produtos da ciclooxigenase (COX). Supõe-se que a atividade antiinflamatória da *C. officinalis* esteja relacionada à sua atividade sobre os derivados da COX. (BROWN & DATTNER, 1998).

A *Carapa Guianensis* ocorre da América Central até o norte da América do Sul (AGRA et al., 2007). Sua semente produz um óleo com propriedades medicinais que se destaca entre os óleos tradicionais, muito utilizado pelos extrativistas, índios e ribeirinhos e vem despertando grande interesse por parte das indústrias farmacêuticas e cosméticas (BOUFLEUER, 2004). O óleo da semente da *C. Guianensis* é muito utilizado na medicina popular da região norte do Brasil como antitérmico, anti-reumático, anti-inflamatório, antibacteriano, fungicida, repelente de insetos e como protetor solar (FERRARI et al., 2007).

O óleo produzido pela semente de andiroba é muito comercializado na Amazônia pela sua propriedade terapêutica popular, cuja experiência de emprego em diferentes enfermidades é passada de geração em geração, dentre as quais se destacam algumas ações (Penido et al., 2006). O óleo possui coloração amarelo-clara, gosto extremamente amargo e aroma suigêneris, porém estas características variam de acordo com o método de extração (CARVALHO, 2004).

É composto por ácidos graxos: palmítico, palmitolêico, esteárico, oleico, linoleico e araquídico. Destes, o ácido oleico é encontrado em maior quantidade (CARVALHO, 2004). Cerca de dois a cinco por cento deste óleo é constituído por limonóides chamados andirobina, substância com ação fagorepelente e antiinflamatória comprovadas em estudos laboratoriais (AMBROZIM et al., 2006).

Este trabalho teve por finalidade produzir um gel, a partir da associação de óleos essenciais de *Calêndula Officinalis* e *Carapa Guianensis* e avaliar o seu potencial antimicrobiano.

MATERIAL E MÉTODOS

Óleos essenciais de *Calêndula Officinalis* e *Carapa Guianensis*, obtidos de fornecedores idôneos, foram incorporados em 50ml de base de gel, onde foi incorporado 1ml de cada óleo essencial, e 2ml da associação dos dois óleos.

A avaliação da ação antimicrobiana foi realizada *in vitro* sendo utilizadas como indicadores quatro cepas de microrganismos, sendo três cepas de bactérias e uma de levedura. As cepas bacterianas utilizadas foram:

Staphylococcus Aureus ATCC 3613, *Escherichia Coli* sp., *Salmonella* sp., e a levedura: *Candida Albicans* ATCC 76615.

A característica organoléptica de cor e o pH foram realizados respectivamente por visualização e análise de pH com o pHmetro de bancada digital marca QUIMIS, com calibração do próprio equipamento.

O poder inibitório de microrganismos foi realizado a partir da técnica *Pour-Plate*, onde foram preparados inóculos dos respectivos microrganismos supracitados em solução salina de soro fisiológico. Para controlar a concentração bacteriana foi utilizada a escala 0,5 de Marc-Farland. Foram feitas diluições dos géis (1 ml da amostra em 9 ml de líquido de diluição), a diluição foi feita até 10^{-5} . Foi inoculado 1 ml da diluição 10^{-5} no fundo de uma placa estéril. Em seguida foi vertido 15 ml do meio de cultura. Após essa etapa, as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Para em seguida fazer as contagens das colônias crescidas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As características visuais do produto para aceitabilidade por parte do consumidor são muito importante, muitos visam as características macroscópicas, o cheiro e o aspecto que o produto vai deixar na pele. A composição do gel foi a seguinte: base do gel, incorporando o princípio ativo, que foram os óleos essenciais de acordo com a TABELA I e II.

A preparação das formas farmacêuticas depende da combinação do, rigor científico com a arte de manipular, sendo necessário considerar fatores físico-químicos e farmacêuticos (ALLEN, et al., 2007).

O gel é a forma farmacêutica semi-sólida de um ou mais princípios ativos que contém um agente gelificante para fornecer viscosidade a um sistema no qual partículas de dimensão coloidal - tipicamente entre 1 nm e 1 µm - são distribuídas uniformemente. Um gel pode conter partículas suspensas. (Farmacopeia 2012).

Tabela I. Composição dos géis

Componentes	Quantidade
Gel	50g
<i>Calêndula Officinalis</i>	1ml
<i>Carapa Guianensis</i>	1ml

Tabela II. Características macroscópicas e composição dos géis

	Qnt.	COR	Princípio ativo
Amostra 1	50g	Branco	<i>Carapa Guianensis</i> (Andiroba)
Amostra 2	50g	Marrom	<i>Calêndula Officinalis</i> (Calêndula)
Amostra 3	50g	Marrom	<i>Calêndula Officinalis e Carapa Guianensis</i>

A determinação do valor do pH está relacionada a compatibilidade dos componentes da formulação, eficácia e segurança de uso, constituindo um importante parâmetro a ser avaliado nos estudos de estabilidade (DECCACHE, 2006).

O pH do gel apresentou-se dentro do escopo estipulado para o produto que fica entre (5,0 - 6,0). Além disso, este pH fica dentro do pH fisiológico da pele que é de (4,0 - 6,5), tornando assim um produto seguro para o uso.

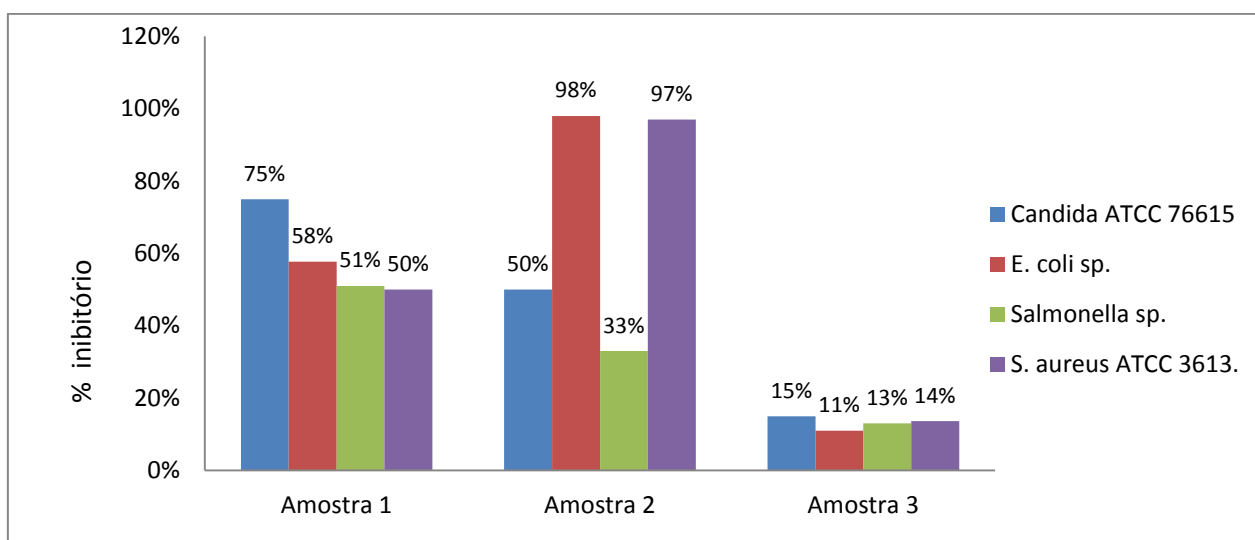
O pH da formulação é importante não só na estabilidade dos princípios ativos. Abaixo do pH 3,4, os ésteres de ácidos graxos, presentes na fase oleosa das emulsões, tendem a hidrolisar e, como resultado, o produto pode apresentar odor desagradável (Farmacopeia 2012).

Tabela III. Determinação do pH

	Componente	pH
Amostra 1	<i>Calêndula Officinalis</i>	6.0
Amostra 2	<i>Carapa Guianensis</i>	6.5
Amostra 3	<i>Calêndula + Carapa</i>	6.5

As composições testadas foram assim formuladas, determinando o poder de ação de cada componente e também a junção deles, onde pôde ser evidenciado que os dois óleos essenciais incorporados no gel tiveram uma ação melhor frente ao fungo *Candida* ATCC 76615, este fato também foi evidenciado na formulação que apresentava com o princípio ativo *Calêndula Officinalis*. De acordo com os resultados, os géis apresentaram uma boa atividade antimicrobiana para *Candida* ATCC 76615 média de 46,6%, *E.Coli* sp. média de 55,6%, *Salmonella* sp. média de 32,3 e *S.Aureus* ATCC 3613 média de 53,6%. A associação entre os dois componentes no gel evidenciou um antagonismo, uma vez que a ação antimicrobiana foi mais expressiva, em cada gel formulado com apenas um princípio ativo (GRÁFICO 1).

GRÁFICO 1. Determinação da Atividade Antimicrobiana dos Géis



Amostra 1: *Calêndula Officinalis*; Amostra 2: *Carapa Guianensis*; Amostra 3: *Calêndula O.+Carapa G.*

O estudo de agentes antimicrobianos de origem vegetal inicia com uma avaliação biológica completa para garantir a eficácia e segurança, seguido pela identificação de princípios ativos, formulações de dosagem e perfil farmacocinético (DAS et al., 2010).

Uma característica importante, responsável pela ação antimicrobiana que os óleos essenciais apresentam, são os componentes hidrofóbicos que permitem a partição de lipídeos da membrana celular bacteriana, desintegrando as estruturas e tornando-as mais permeável (Sikkema, 1994).

CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, foi possível concluir que o gel produzido com a junção dos dois óleos essenciais, não foi caracterizado por possuir uma boa propriedade antimicrobiana frente aos microrganismos testados.

Conferindo-lhe assim características não satisfatórias, não sendo indicado como produto para uso em processos patológicos.

AGRADECIMENTOS

A Deus por permitir a realização e concretização deste trabalho. Aos meus pais por proporcionarem sempre o melhor para minha formação acadêmica. Agradeço a minha colega de laboratório Yêda Sandrine Farias da Siva e aos técnicos Letícia Silva e Wellington Barros pelo auxílio no laboratório e também a Faculdade Asces pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MAZARO, S.M. et al. Potencial de extratos à base de *Calendula officinalis* L. na indução da síntese de fitoalexinas e no efeito fungistático sobre *Botrytis cinerea*, in vitro. Rev. bras. plantas med. [online]. 2013, vol.15, n.2, pp. 208-216. ISSN 1516-0572. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722013000200007>.
2. ARAUJO, C.B.O. et al. Uso da adubação orgânica e cobertura morta na cultura da calêndula (*Calendula officinalis* L.). Rev. bras. plantas med. [online]. 2009, vol.11, n.2, pp. 117-123. ISSN 1516-0572. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722009000200001>.
3. PARENTE, L.M.L. et al. Efeito cicatrizante e atividade antibacteriana da *Calendula officinalis* L. cultivada no Brasil. Rev. bras. plantas med. [online]. 2009, vol.11, n.4, pp. 383-391. ISSN 1516-0572. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722009000400005>.

4. Angiogenic activity of *Calendula officinalis* flowers L. in rats. *Acta Cir. Bras.* [online]. 2011, vol.26, n.1, pp. 19-24. ISSN 1678-2674. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-86502011000100005>.
5. SARTORI, L.R. et al. Atividade anti-inflamatória do granulado de *Calendula officinalis* L. e *Matricaria recutita* L. *Rev. bras. farmacogn.* [online]. 2003, vol.13, suppl.1, pp. 17-19. ISSN 0102-695X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2003000300007>.
6. GAZIM, Zilda Cristina et al. Analysis of the essential oils from *Calendula officinalis* growing in Brazil using three different extraction procedures. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* [online]. 2008, vol.44, n.3, pp. 391-395. ISSN 1516-9332. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-93322008000300008>.
7. BORTOLO, D.P.G.; MARQUES, P.A.A. and PACHECO, A.C. Teor e rendimento de flavonóides em calêndula (*Calendula officinalis* L.) cultivada com diferentes lâminas de irrigação. *Rev. bras. plantas med.* [online]. 2009, vol.11, n.4, pp. 435-441. ISSN 1516-0572. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722009000400012>.
8. SILVA, Suniá Gomes; NUNOMURA, Rita de Cássia Saraiva and NUNOMURA, Sergio Massayoshi. Limonoides isolados dos frutos de *Carapaguianensis* Aublet (Meliaceae). *Quím. Nova* [online]. 2012, vol.35, n.10, pp. 1936-1939. ISSN 0100-4042. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422012001000009>.
9. ARAGAO, Dayse de Souza et al. Efeito do sombreamento na anatomia foliar de plantas jovens de andiroba (*Carapaguianensis* Aubl.). *Rev. Árvore* [online]. 2014, vol.38, n.4, pp. 631-639. ISSN 0100-6762. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622014000400006>.
10. FARIAS, M.P.O et al. Avaliação in vitro dos efeitos do óleo da semente de *Carapaguianensis* Aubl. sobre larvas de nematóides gastrintestinais de

caprinos e ovinos. Rev. bras. plantas med. [online]. 2010, vol.12, n.2, pp. 220-226. ISSN 1516-0572. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722010000200015>.

11. FERRARI, Márcio; OLIVEIRA, Maria S. C.; NAKANO, Adelino K. and ROCHA-FILHO, Pedro A..Determinação do fator de proteção solar (FPS) in vitro e in vivo de emulsões com óleo de andiroba (*Carapaguianensis*).Rev. bras. farmacogn. [online]. 2007, vol.17, n.4, pp. 626-630. ISSN 1981-528X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2007000400023>.

12. SANTOS, Orlando José dos et al.Efeito de *Schinusterebinthifolius*Raddi (aroeira) e *Carapaguianensis*Aublet (andiroba) na cicatrização de gastrorrafias. ABCD, arq. bras. cir. dig. [online]. 2013, vol.26, n.2, pp. 84-91. ISSN 0102-6720. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-67202013000200003>.

13. FARIAS, M.P.O. et al.Potencial acaricida do óleo de andiroba*Carapaguianensis*Aubl. sobre fêmeas adultas ingurgitadas de *Anocentornitens* Neumann, 1897 e *Rhipicephalussanguineus*Latreille, 1806. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. [online]. 2009, vol.61, n.4, pp. 877-882. ISSN 1678-4162. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352009000400015>.

14. MARTINS, Karina et al.Pollen and seed flow patterns of *Carapaguianensis*Aublet. (Meliaceae) in two types of Amazonian forest. Genet. Mol. Biol. [online]. 2012, vol.35, n.4, pp. 818-826.Epub Oct 16, 2012. ISSN 1415-4757. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-47572012005000068>.

15. MALAFAIA, Osvaldo; CAMPOS, Antonio Carlos Ligocki; TORRES, Orlandoand GOLDENBERG, Saul.Os fitoterápicos e seu potencial na cicatrização em cirurgia. Acta Cir. Bras. [online]. 2006, vol.21, suppl.3, pp. 1-1. ISSN 1678-2674. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-86502006000800001>.

16. RATES, S.M.K..Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. Rev. bras. farmacogn. [online]. 2001, vol.11, n.2, pp. 57-69. ISSN 0102-695X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2001000200001>.

17. VARELA, Danielle Sousa Silva and AZEVEDO, Dulcian Medeiros de. Saberes e práticas fitoterápicas de médicos na estratégia saúde da família. *Trab. educ. saúde*[online]. 2014, vol.12, n.2, pp. 273-290. ISSN 1981-7746. <http://dx.doi.org/10.1590/S1981-77462014000200004>.
18. YUNES, Rosendo A.; PEDROSA, Rozangela Curi and CECHINEL FILHO, Valdir. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. *Quím. Nova*[online]. 2001, vol.24, n.1, pp. 147-152. ISSN 1678-7064. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422001000100025>.
19. FISCHER, Dominique Corinne Hermine; OHARA, Mitsuko Taba and SAITO, Takako. Padrão microbiano em medicamentos não estéreis de uso oral: enquadramento de produtos fitoterápicos. *Rev. bras. farmacogn.* [online]. 1996, vol.5, n.1, pp. 29-54. ISSN 0102-695X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X1996000100005>.
20. SILVA, Maria Izabel G.; GONDIM, Ana Paula S.; NUNES, Ila Fernanda S. and SOUSA, Francisca Cléa F.. Utilização de fitoterápicos nas unidades básicas de atenção à saúde da família no município de Maracanaú (CE). *Rev. bras. farmacogn.* [online]. 2006, vol.16, n.4, pp. 455-462. ISSN 1981-528X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2006000400003>.
21. MARLIERE, Luciano D. P. et al. Utilização de fitoterápicos por idosos: resultados de um inquérito domiciliar em Belo Horizonte (MG), Brasil. *Rev. bras. farmacogn.* [online]. 2008, vol.18, suppl., pp. 754-760. ISSN 1981-528X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2008000500021>.
22. FRANCA, Inácia Sátiro Xavier de; SOUZA, Jeová Alves de; BAPTISTA, Rosilene Santos and BRITTO, Virgínia Rossana de Sousa. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. *Rev. bras. enferm.* [online]. 2008, vol.61, n.2, pp. 201-208. ISSN 1984-0446. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-71672008000200009>.

23. VILLANOVA, Janaina C. O.; OREFICE, Rodrigo L. and CUNHA, Armando S..Aplicações farmacêuticas de polímeros. *Polímeros*[online]. 2010, vol.20, n.1, pp. 51-64. Epub Mar 05, 2010. ISSN 0104-1428. <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-14282010005000009>.
24. GOEBEL, Karin et al.In vitro release of diclofenacdiethylamine from gels: evaluation of generic semisolid drug products in Brazil. *Braz. J. Pharm. Sci.* [online]. 2013, vol.49, n.2, pp. 211-219. ISSN 1984-8250. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-82502013000200003>.
25. GEL: 40 anos de história na Linguística brasileira. *DELTA* [online]. 2010, vol.26, n.1, pp. 221-222. ISSN 0102-4450. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-44502010000100016>.
26. PEREIRA, Gabriela Garrastazueta.Formulation and characterization of poloxamer 407®: thermoreversible gel containing polymeric microparticles and hyaluronic acid. *Quím. Nova* [online]. 2013, vol.36, n.8, pp. 1121-1125. ISSN 0100-4042. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422013000800008>.
27. RODRIGUEZ PERDOMO, Yanet. Escalado piloto del ingrediente farmacéuticoactivo de Rhizophoramangle L. para laobtención de un gel. *RevSalud Anim.* [online]. 2013, vol.35, n.1, pp. 72-72. ISSN 0253-570X.
28. ANVISA
29. PACKER, Janaina F.and LUZ, Marisa M.S. da.Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. *Rev. bras. farmacogn.* [online]. 2007, vol.17, n.1, pp. 102-107. ISSN 1981-528X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2007000100019>.
30. SAVIOLI, Ricardo Novak; PECORA, Jesus Djalma; MIAN, Henis and ITO, IzabelYoko.Evaluation of the antimicrobial activity of each component in Grossman's sealer. *Braz. oral res.* [online]. 2006, vol.20, n.2, pp. 127-131. ISSN 1807-3107. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-83242006000200007>.

31. ALMEIDA, Jackson Roberto Guedes da Silva et al. Antimicrobial activity of the essential oil of *Bowdichiavirgilioides* Kunt. Rev. bras. farmacogn. [online]. 2006, vol.16, suppl., pp. 638-641. ISSN 1981-528X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2006000500009>.
32. DAL POZZO, M et al. Activity of essential oils from spices against *Staphylococcus* spp. isolated from bovine mastitis. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. [online]. 2011, vol.63, n.5, pp. 1229-1232. ISSN 0102-0935. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352011000500026>.
33. NASCIMENTO, Paula F.C. et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. Rev. bras. farmacogn. [online]. 2007, vol.17, n.1, pp. 108-113. ISSN 1981-528X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2007000100020>.
34. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. Rev. bras. farmacogn. [online]. 2005, vol.15, n.4, pp. 316-320. ISSN 1981-528X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2005000400010>.
35. Antibacterial activity of medicinal plant extracts. Braz. J. Microbiol. [online]. 2007, vol.38, n.4, pp. 717-719. ISSN 1678-4405. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822007000400024>.
36. ANTUNES, Rossana M. Pessoa et al. Atividade antimicrobiana "in vitro" e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. Rev. bras. farmacogn. [online]. 2006, vol.16, n.4, pp. 517-524. ISSN 1981-528X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2006000400014>.
37. ANVISA. Lista das plantas que são usadas como fitoterápicos. Disponível em: <http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/cp/cp%5b26836-1-0%5d.pdf>. Acesso em 05/09/2013.