

Screening da Atividade Antifúngica de Óleos Essenciais sobre *Candida Albicans*

Screening of Antifungal Activity of Essential Oils on *Candida Albicans*

LEOPOLDINA DE FÁTIMA DANTAS DE ALMEIDA¹
YURI WANDERLEY CAVALCANTI²
WALÉRIA PEREIRA VIANA³
EDELTRUDES DE OLIVEIRA LIMA⁴

RESUMO

Objetivo: Avaliar a atividade antifúngica de óleos essenciais de *Ocimum basilicum* (manjerição), *Cymbopogon martinii* (palmarosa), *Cyperus articulatus* (piprioca), *Thymus vulgaris* (tomilho) e *Cinnamomum cassia* (canela da china) frente cepas de *Candida albicans*. **Material e Métodos:** Foram selecionadas oito cepas de *C. albicans* isoladas de pacientes HIV positivos (cedidas pelo laboratório de Micologia da Universidade Federal da Paraíba), e uma cepa padrão de *C. albicans* (ATCC7648). A atividade antifúngica foi avaliada pela técnica de difusão em ágar Sabouraud Dextrose, utilizando-se suspensões das leveduras, preparadas em solução salina a 0,9% (10⁶UFC/mL). Discos de papel de filtro (6mm) foram embebidos com 20µL de cada óleo essencial e posicionados sobre o meio de cultura. Realizou-se incubação em estufa bacteriológica a 37°C, por 48h. A atividade antifúngica foi avaliada pela medição dos valores dos halos de inibição. Utilizou-se como controle positivo o miconazol (50µg/mL). **Resultados:** Os valores dos halos de inibição dos óleos essenciais de *O. basilicum*, *C. martinii*, *T. vulgaris* e *C. cassia* frente as amostras clínicas e padrão de *C. albicans* variaram entre 27 e 30mm; enquanto o miconazol variou entre 8 e 10mm. O óleo essencial de *C. articulatus* (piprioca) não apresentou atividade frente às cepas. **Conclusão:** A exceção do óleo essencial de *C. articulatus*, todos os produtos testados apresentaram atividade antifúngica frente amostras de *C. albicans* avaliadas.

DESCRIPTORIOS

Candida Albicans. Candidíase. Produtos Biológicos.

SUMMARY

Objective: To evaluate the antifungal activity of essential oils from *Ocimum basilicum* (basil), *Cymbopogon martinii* (palmarosa), *Cyperus articulatus* (piprioca), *Thymus vulgaris* (thyme) and *Cinnamomum cassia* (cinnamon china) on *Candida albicans* strains. **Material and Methods:** Eight strains of *C. albicans* isolated from HIV-positive patients (provided by the Mycology Laboratory of the Federal University of Paraíba) and one pattern strain (ATCC7648) were selected for this study. The antifungal activity was evaluated by the Diffusion Technique on agar Sabouraud-Dextrose, using fungal suspensions prepared in saline solution 0.9% (10⁶CFU/mL). Paper discs (6mm) were soaked with 20µL of essential oils and fixed on the agar medium. The incubation was in bacteriological incubator at 37°C for 48h. Antifungal activity was evaluated by the measurement of inhibition zones. Miconazole (50µg/mL) was used as positive control. **Results:** The values of inhibitions zones produced by the essential oils from *O. basilicum*, *C. martinii*, *T. vulgaris* and *C. cassia* against the clinical and pattern strains of *C. albicans* ranged between 27 and 30mm, while the miconazole ranged between 8 and 10mm. **Conclusions:** In exception of the essential oil from *C. articulatus*, all products tested have showed antifungal activity against the assessed strains of *C. albicans*.

DESCRIPTORS

Candida Albicans. Candidiasis. Biological products.

1 Aluna do Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Odontologia Preventiva Infantil) da Universidade Federal da Paraíba.

2 Aluno de Graduação em Odontologia. Bolsista de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq/UFPB). Universidade Federal da Paraíba

3 Aluna do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais Sintéticos e Bioativos da Universidade Federal da Paraíba.

4 Professora Doutora do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal da Paraíba. Laboratório de Micologia.

A candidose oral geralmente é diagnosticada por meio da descamação do epitélio oral, além de seu aspecto eritematoso com presença de placas brancas destacáveis sobre a mucosa; sensação de ardência e prurido (NEVILLE, ALLEN, DAMM, 2009). *Candida albicans* é citada como a espécie de maior patogenicidade do gênero, sendo predominantemente encontrada nas lesões (CANNON *et al.*, 1995). Sugere-se que o aparecimento da infecção esteja relacionado ao grau de imunodeficiência do indivíduo (COOGAN, GREENSPAN, CHALLACOMBE, 2005), pois 80 a 90% dos indivíduos acometidos pela AIDS apresentam lesões de candidose oral (COOGAN, GREENSPAN, CHALLACOMBE, 2005, GUTIÉRREZ, DE BEDOUT, TOBON, 2007).

Algumas lesões da cavidade bucal são consideradas preditivas para o diagnóstico de indivíduos infectados pelo HIV, dentre estas a candidose oral (PATTON, HILL, 2000). Estudos têm buscado confirmar a infecção por *Candida* como um indicador de imunossupressão e progressão da AIDS, embora tenham realizado estas observações em curto espaço de tempo (PATTON, HILL, 2000, MATTEE, SCHEUTZ, MOSHY, 2000, SCHUMAN *et al.*, 1998).

A terapia medicamentosa de eleição para o tratamento da candidose oral utiliza antifúngicos poliênicos, como a anfotericina B e a nistatina, e os derivados azóis incluindo o miconazol, sendo usualmente os fármacos de aplicação tópica mais utilizados. Já os sistêmicos são representados pelo fluconazol e itraconazol (KURIYAMA *et al.*, 2005). Entretanto, mesmo com o emprego de diversos medicamentos existe a possibilidade de cepas resistentes, já que há relatos de casos referentes à resistência medicamentosa da *C. albicans* frente a derivados azólicos, em pacientes HIV positivos com diagnóstico de candidose oral (REX *et al.*, 2000). Estudos têm indicado o aparecimento de *Candida* spp. resistentes aos derivados azólicos como fluconazol, cetoconazol e itraconazol (PEREA *et al.*, 2001, PFALLER *et al.*, 2004).

Assim, frente à resistência das espécies de *Candida* aos antifúngicos sintéticos observa-se o uso de produtos naturais, na tentativa de obter-se melhor desempenho sobre tais microrganismos (JANTAM *et al.*, 2008, LIMA *et al.*, 2007, POZZATTI, 2008). O uso de óleos essenciais de origem vegetal frente à *Candida* spp. é relatado em algumas pesquisas laboratoriais

visando conhecer o potencial antifúngico das substâncias (POZZATTI, 2008; ARAÚJO *et al.*, 2004, BARBARO, STELATO, 2009).

A utilização de óleos essenciais na medicina popular tem servido de base em variadas aplicações, dentre estas a produção de produtos anti-sépticos tópicos. Assim, a investigação científica das propriedades dos óleos essenciais tem sido realizada (ALMEIDA *et al.*, 2006, CLAFFEY, 2003, REHDER *et al.*, 2004).

A ação antifúngica de óleos essenciais de *Zingiber officinalis* (gengibre), *Cominum cyminum* (cominho), *Coriandrum sativum* (coentro), *Thymus vulgaris* (tomilho), *Ocimum basilicum* (manjeriço) e *Myristica fragrans* (noz moscada) foi observada por BARBARO, STELATO (2009), de forma a concluir que os produtos apresentam atividade antifúngica considerável frente cepas de *Candida*. A ação antibacteriana e antifúngica de outras espécies como a de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Eucaliptus citriodora* (eucalipto) e *Eugenia uniflora* (pitanga) foi relatada por ARAÚJO *et al.*, (2004).

Outros óleos essenciais de espécies vegetais como *Syzygium aromaticum* (cravo), *Ocimum basilicum* (manjeriço), *Rosmarinus officinalis* (alecrim), *Anethum graveolens* (endro), *Zingiber officinalis* (gengibre) e *Cinnamomum zeylanicum* (canela) tiveram suas atividades antimicrobianas avaliadas frente ao *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella choleraesuis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Penicillium islandicum* e *Aspergillus flavus*. Averiguou-se que as espécies fúngicas foram as mais sensíveis à ação das substâncias (LÓPEZ *et al.*, 2005).

Assim, objetivou-se avaliar a atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Ocimum basilicum* (manjeriço), *Cymbopogon martinii* (palmarosa), *Cyperus articulatus* (piprioca), *Thymus vulgaris* (tomilho branco) e *Cinnamomum cassia* (canela da china) frente cepas de *C. albicans* isoladas de pacientes HIV positivos e cepa padrão (ATCC 7648).

MATERIAIS E MÉTODOS

Os óleos essenciais de *Ocimum basilicum*

(manjeriçao), *Cymbopogon martinii* (palmarosa), *Cyperus articulatus* (piprioca), *Thymus vulgaris* (tomilho) e *Cinnamomum cassia* (canela da china) foram obtidos através da empresa Viessence® (Florianópolis -SC) e ensaiados em suas formulações puras.

Foram utilizadas oito cepas de *C. albicans* isoladas de pacientes HIV positivos, cedidas pelo Laboratório de Micologia da Universidade Federal da Paraíba. As amostras foram selecionadas aleatoriamente e nomeadas (C01- C08), após foram repicadas em Ágar Saburaud Dextrose (DIFCO®, Detroit, Michigan, EUA) e incubadas em estufa a 35°C por 48 horas. As suspensões fúngicas foram efetuadas em solução salina estéril a 0,9%, sendo posteriormente comparadas à escala de MacFarland (10⁶ UFC/mL). O mesmo processo foi efetuado para a cepa padrão de *C. albicans* -CP (ATCC 7648).

Considerando-se a natureza clínica das cepas, o presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley (UFPB) sob o protocolo 462/10, de acordo com a resolução 196/96.

A avaliação antifúngica dos óleos essenciais foi determinada por meio da técnica da disco-difusão em

Agar Saburaud Dextrose (BAUER *et al.*, 1966). Assim, placas de petri contendo Ágar Saburaud Dextrose foram semeadas por meio da técnica do esgotamento e discos de papel com 6,0mm de diâmetro, foram embebidos nos óleos essenciais e inseridos sob o meio de cultura. As placas foram incubadas em estufa a 37°C por 48 horas. A atividade antifúngica dos óleos essenciais foi avaliada por meio da medição dos halos de inibição, em mm, os quais foram analisados descritivamente. Utilizou-se o óleo na concentração de 50µg/mL como controle positivo.

RESULTADOS

Os valores dos halos de inibição dos óleos essenciais frente às cepas de *C. albicans* estão descritos na tabela 01.

DISCUSSÃO

A infecção causada por *C. albicans* tem sido relatada como um indicador de imunossupressão e progressão da AIDS (PATTON, HILL, 2000, MATTEE, SCHEUTZ, MOSHY, 2000, SCHUMAN *et al.*, 1998).

Tabela 01: Valores dos halos de inibição em mm dos óleos essenciais e controles positivos frente às cepas de <i>C. albicans</i>									
Óleos essenciais e controles	Cepas de <i>C. albicans</i> .								
	C01	C02	C03	C04	C05	C06	C07	C08	CP
<i>O. basilicum</i> (manjeriçao)	30,0	28,0	30,0	30,0	30,0	30,0	28,0	27,0	28,0
<i>C. martinii</i> (palmarosa)	30,0	28,0	30,0	30,0	27,0	30,0	28,0	27,0	30,0
<i>C. articulatus</i> (piprioca)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>T. vulgaris</i> (tomilho)	30,0	28,0	30,0	30,0	30,0	30,0	28,0	27,0	30,0
<i>C. cassia</i> (canela da china)	30,0	28,0	30,0	30,0	30,0	30,0	28,0	27,0	27,0
Miconazol (Controle positivo)	10,0	9,0	9,5	8,5	9,0	10,0	9,0	8,0	9,0

Assim, a terapêutica adotada no tratamento da candidose oral em pacientes portadores da síndrome é de grande valia, sendo atualmente realizada pelo uso de fármacos como a anfotericina B, nistatina (KURIYAMA *et al.*, 2005). Entretanto, alguns estudos relatam a resistência de espécies de *Candida* aos antifúngicos sintéticos. Assim, destacam o uso de produtos naturais na tentativa de obter-se melhor desempenho sobre tais microrganismos (JANTAM *et al.*, 2008, LIMA *et al.*, 2007, POZZATTI, 2008).

A utilização de produtos naturais como agentes antimicrobianos tem sido investigada (POZZATTI, 2008, ARAÚJO *et al.*, 2004, BARBARO, STELATO, 2009). Assim, como resultados do presente estudo observou-se que os óleos essenciais de *O. basilicum* (manjeriço), *C. martinii* (palmarosa), *T. vulgaris* (tomilho) e *C. cassia* (canela da china) apresentaram atividade antifúngica frente as cepas testadas. Apenas o óleo essencial de *C. articulatus* (piprioca) não apresentou qualquer indício de atividade antifúngica.

Desta forma, nossos resultados corroboram com os achados de BARBARO, STELATO, (2009), que avaliaram a atividade antifúngica do *O. basilicum* (manjeriço) e *T. vulgaris* (tomilho), em meio sólido, frente a espécies de *C. albicans* de referência (ATCC 10231, 42272, 421888). Os autores apresentaram valores de halos de inibição de 30, 50 e 33 mm do óleo essencial do manjeriço e para o óleo essencial do tomilho os valores de halos foram de 40, 34 e 50 mm frente a *C. albicans* (BARBARO, STELATO, 2009). Em nossos resultados observou-se que para o óleo essencial de manjeriço e tomilho os valores dos halos de inibição variaram entre 27 e 30 mm.

Da comparação entre os resultados citados observa-se uma potente atividade antifúngica dos óleos essenciais de manjeriço e tomilho, frente a *C. albicans*. Entretanto, ressalta-se que as diferenças nos valores dos halos de inibição, observadas no presente estudo e naquele realizado por BARBARO, STELATO (2009), podem ser devido à utilização de cepas fenotipicamente diferentes, pois as amostras do estudo citado e deste apresentam números de ATCC distintos, além da utilização de cepas clínicas no presente estudo.

A ação antimicrobiana dos óleos essenciais de palmarosa, manjeriço e tomilho frente a espécies bacterianas e fúngicas, incluindo a *C. albicans* (ATCC 10231) foi mensurada por DUARTE *et al.*, (2005), por

meio do método da microdiluição. Assim, observou-se que a Concentração Inibitória Mínima dos óleos de palmarosa e manjeriço foi superior a 2mg/mL e do óleo de tomilho foi inferior ao valor mencionado. Com objetivo semelhante GIORDANI *et al.* (2006) avaliaram a atividade antifúngica do óleo essencial de *C. cassia* (canela), sobre *C. albicans* (ATCC 90029), isolado e associado a Anfotericina B, obtendo valores de CIM de 0,5mg/mL.

Diante do fato, observa-se atividade antifúngica dos óleos essenciais frente a *C. albicans*, entretanto a comparação entre os estudos deve ser feita somente no tocante a presença ou ausência de atividade, já que foram utilizadas metodologias distintas, a difusão em ágar e a microdiluição, pois o presente estudo apenas avalia a presença de atividade e não o valor da CIM, como realizado por DUARTE *et al.*, (2005) e GIORDANI *et al.*, (2006).

O óleo essencial de *C. cassia* (canela), juntamente com 74 amostras de outros produtos naturais, foi avaliado frente ao *Aspergillus niger*, utilizando-se a técnica da difusão em ágar. Observou-se um valor de 40 mm para o halo de inibição do óleo essencial frente ao fungo (PAWAR, THAKER, 2006). Resultado semelhante foi encontrado, já que se observa uma variação entre 27 e 30 mm nos valores dos halos de inibição do óleo essencial de canela da china, frente às cepas de *C. albicans*. Assim, observa-se atividade antifúngica do óleo de canela, mesmo em fungos de gêneros distintos e potencialmente patogênicos.

O óleo essencial de *C. articulatus* (piprioca) não apresentou atividade antifúngica, quando comparada ao controle positivo (miconazol) e aos outros óleos. Esta espécie vegetal é popularmente utilizada por sua ação antibiótica e antiinflamatória (DUARTE *et al.*, 2005, DUARTE *et al.*, 2006). No entanto, mesmo sendo uma espécie nativa brasileira, nenhum estudo acerca da atividade antimicrobiana da piprioca foi encontrado.

A *C. albicans* por ser a espécie mais prevalente no diagnóstico da candidose oral, foi inserida no estudo para avaliar a atividade antifúngica dos óleos essenciais. O fato da escolha de amostras clínicas se baseia na necessidade de dados referentes a estas amostras, visto que a literatura utiliza apenas cepas padrão para ensaios microbiológicos.

Em relação à metodologia utilizada caracterizou-se por ser um método difundido em ensaios laboratoriais, sendo de rápida e fácil execução, possibilitando a seleção

de produtos com potencial atividade antimicrobiana, entretanto, a lipofobia do meio de cultura e a viscosidade dos óleos essenciais podem impedir a difusão dos fitoconstituintes no ágar, sendo, assim, caracterizado como um teste de baixa sensibilidade (ALLEN, MOLAN, REID, 1991). Assim, o presente estudo realiza apenas uma triagem da atividade antifúngica dos óleos essenciais, em suas concentrações puras, apenas avaliando a ausência e existência de atividade antifúngica, não tendo sido realizado nenhum teste em meio de cultura líquido ou com concentrações menores dos óleos essenciais. Desta forma, sugere-se a realização de estudos com metodologias com maior acurácia, a fim

de denotar a real atividade dos óleos essenciais frente às amostras fúngicas.

CONCLUSÃO

Observou-se atividade antifúngica dos óleos essenciais de *O. basilicum* (manjeriço), *C. martinii* (palmarosa), *T. vulgaris* (tomilho) e *C. cassia* frente amostras de *C. albicans* isoladas de pacientes HIV positivos e *C. albicans* padrão (ATCC 7648). A atividade antifúngica do óleo essencial de *C. articulatus* (piprioca) não foi comprovada frente às cepas ensaiadas.

REFERÊNCIAS

1. ALLEN KL, MOLAN PC, REID GM. A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys. *J. Pharm. Pharmacol.*, 43(6): 817-22, 1991.
2. ALMEIDA JRGA, SILVA-FILHO RN, NUNES XP, DIAS CS, PEREIRA FO, LIMA EO. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Bowdichia virgilioides* Kunt. *Rev Bras Farmacogn.*, 16(supl): 638-41, 2006.
3. ARAÚJO JCLV, LIMA EO, CEBALLOS BSO, FREIRE KRL, SOUZA EL, SANTOS FILHO L. Ação antimicrobiana de óleos essenciais sobre microrganismos potencialmente causadores de infecções oportunistas. *Rev. Patol. Trop.* 33(1): 55-64, 2004.
4. BARBARO, N. R.; STELATO, M. M. Atividade anti-*candida* de óleos essenciais de plantas utilizadas na culinária. *Anais do XIV Encontro de Iniciação Científica da PUC-Campinas*. 2009. Disponível em: http://74.125.155.132/scholar?q=cache:EpDV30lvwRsJ:scholar.google.com/&hl=pt-BR&as_sdt=2000. Acesso em: 05 de junho de 2010.
5. BAUER AW, KIRBY WM, SHERRIS JC, TURCK M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am. J. Clin. Pathol.*, 45(4): 494-6, 1966.
6. CANNON RD, HOLMES AR, MASON AB, MONK BC. Oral *Candida*: clearance, colonization, or candidiasis? *J Dent Res.*, 74(5):1152-61, 1995.
7. CLAFFEY, N. Essential oil mouthwashes: a key component in oral health management. *J Clin Periodontol.*, 30(5):22- 4, 2003.
8. COOGAN MM, GREENSPAN J, CHALLACOMBE SJ. Oral lesions in infection with human immunodeficiency virus. *Bull. World Health Organ.*, 83(9):700-6, 2005.
9. DUARTE MCT, FIGUEIRAGM, SARTORATTOA, REHDER VLG, DELARME LINAC. Anti-*candida* activity of essential oils and extracts from native and exotic medicinal plants used in Brazil. *J. Ethnopharmacol.*, 97(2): 305-11. 2005.
10. DUARTE MCT. Construindo a história dos produtos naturais. *Multiciência*. 7, 2006.
11. GIORDANI R, REGLI P, KALOUSTIAN J, PORTUGAL H. Potentiation of Antifungal Activity of Amphotericin B by Essential Oil from *Cinnamomum cassia*. *Phytother. Res.*, 20(1): 58-61, 2006.
12. GUTIÉRREZ C, DE BEDOUT C, TOBON AM. Sensibilidad a fluconazol y voriconazol de aislamientos de *Candida* spp., obtenidos de mucosa oral de pacientes com sida. *Assoc. Colombiana Infectol.*, 11(4): 183-9, 2007.
13. JANTAN IB, MOHARAN BAK, SANTHANAM J, JAMAL JA. Correlation between chemical composition and antifungal activity of the essential oils of eight *Cinnamomum* species. *Pharm. Biol.*, 46(6): 405-12, 2008.
14. KURIYAMA T, WILLIAMS DW, BAGG J, COULTER WA, READY D, LEWIS MA. In vitro susceptibility of oral *Candida* to seven antifungal agents. *Oral Microbiol Immunol.*, 20(6): 349-53, 2005.
15. LIMA IO, OLIVEIRA RAG, LIMA EO, FARIAS NMP, SOUZA EL. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. *Rev Bras Farmacogn.*, 16(2):197-201, 2006.
16. LÓPEZ P, SANCHEZ C, BATLLE R, NERIN C. Solid- and Vapor-Phase Antimicrobial Activities of Six Essential Oils: Susceptibility of Selected Foodborne Bacterial and Fungal Strains. *J. Agric. Food Chem.* 53(17): 6939-46, 2005.
17. MATTEE MI, SCHEUTZ J, MOSHY J. Occurrence of lesions in relation to clinical and immunological status among HIV-infected adult Tanzanians. *Oral Dis.*, 6(2): 106-11, 2000.
18. NEVILLE BW, ALLEN CM, DAMM DD. *Patologia Oral e Maxilofacial*. 5. ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2009.
19. PATTON LL, HILL C. Sensitivity, specificity, and positive predictive value of oral opportunistic infections in adults with HIV/AIDS as markers of immunosuppression and viral burden. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*, 90(2): 182-8, 2000.

20. PAWAR VC, THAKER VS. In vitro efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. *Mycoses*, 49(4): 316–23, 2006.
21. PEREAS, LÓPEZ-RIBOT JL, KIRKPATRICK WR, McATEE RK, SANTILLÁN RA, MARTÍNEZ M, *et al.* Prevalence of molecular mechanisms of resistance to azole antifungal in *Candida albicans* strains displaying high-level fluconazole resistance isolated from human immunodeficiency virus-infected patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45(10): 2676–84, 2001.
22. PFALLER MA, MESSER SA, BOYKEN L, RICE C, TENDOLKAR S, HOLLIS RJ, *et al.* Cross-resistance between fluconazole and ravuconazole and the use of fluconazole as a surrogate marker to predict susceptibility and resistance to ravuconazole among clinical isolates of *Candida* spp. *J. Clin. Microbiol.* 42(7): 3137–41, 2004.
23. POZZATTI P. In vitro activity of essential oils extracted from plants used as aspices against fluconazole-resistant and fluconazole-susceptible *Candida* spp. *Can. J. Microbiol.*, 54(6): 950-6, 2008.
24. REX JH, WALSH TJ, SOBEL JD, FILLER SG, PAPPAS PG, *et al.* Practice Guidelines for the treatment of candidiasis. *J Infect Dis.*, 30(4): 662-78, 2000.
25. REHDER VLG, MACHADO ALM, DELARME LINA C, SARTORATTO A, FIGUEIRA GM, DUARTE MCT. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Origanum applii* e *Origanum vulgare*. *Rev. bras. plantas med.*, 6(1): 67-71, 2004.
26. SCHUMAN P, OHMIT SE, SOBEL JD, MAYER KH, GREENE V, ROMPALO A, *et al.* Oral lesions among women living with or at risk for HIV infection. *Am J Med.*, 104(6): 559-64, 1998.

Correspondência

Rua Luis Germóglio, 439. Aptº 304 - Bancários
58051-742 João Pessoa – Paraíba – Brasil

E-mail

leopoldinalmeida@hotmail.com