

Efeito do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. na resistência aos aminoglicosídeos em *Staphylococcus aureus*

Effect of essential oil of *Ocimum basilicum* L. in the resistance to aminoglycosides in *Staphylococcus aureus*

Aparecida Sofia Fonseca Nunes¹, Idglan Sá de Lima¹, Luizângela Reis Osório², Aislan Pereira Lira de Abreu³, Bernadete Helena Cavalcanti dos Santos⁴, Edeltrudes de Oliveira Lima⁵, Edson Cavalcanti da Silva Filho⁶, Josie Haydée Lima Ferreira¹, Humberto Medeiros Barreto^{1*}

¹Laboratório de Pesquisa em Microbiologia. Departamento de Parasitologia e Microbiologia/CCS/UFPI

²Doutoranda em Biotecnologia, Campus Amílcar Ferreira Sobral/UFPI.

³Mestre em Farmacologia. Professor Assistente, FAESF

⁴Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Laboratório de Microbiologia Clínica/CCS/UFPB

⁵Laboratório de Micologia Clínica/CCS/UFPB. Professor Associado do Departamento de Ciências Farmacêuticas.

⁶Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados/CCN/UFPI.

* Correspondência: E-mail: hmbarreto@ufpi.edu.br

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade moduladora da resistência aos aminoglicosídeos do óleo essencial de *O. basilicum* (OEOP) contra uma linhagem MRSA de origem clínica. Ensaios de microdiluição foram realizados com os antibióticos neomicina e amicacina na presença e na ausência do OEOP em concentrações subinibitórias. O OEOP não apresentou atividade antibacteriana direta nas concentrações clinicamente relevantes testadas ($\geq 1024 \mu\text{g/mL}$) contra as linhagens SA10 e ATCC25923. Por outro lado, quando o OEOP foi adicionado ao meio de cultura em uma concentração subinibitória, verificou-se uma redução da CIM da neomicina (de 625 para $156 \mu\text{g/mL}$) e da amicacina (de 311 para $124 \mu\text{g/mL}$) contra a cepa SA10. Um efeito semelhante ocorreu quando o OEOP foi substituído por clorpromazina, uma droga capaz de inibir bombas de efluxo bacteriana, sugerindo a ocorrência de um mecanismo de resistência mediado por bomba de efluxo na linhagem SA10. Estes resultados mostram que metabólitos secundários presentes no OEOP podem atuar como moduladores da resistência aos aminoglicosídeos, indicando um possível uso destes metabólitos associados com neomicina ou amicacina no tratamento de infecções causadas por MRSA.

PALAVRAS-CHAVE: atividade antimicrobiana, plantas medicinais, resistência bacteriana, *Staphylococcus aureus*, *Ocimum basilicum* L..

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate modulatory activity of the resistance to aminoglycosides of essential oil from *O. basilicum* in clinical isolate of MRSA. Microdilution assays were performed with neomycin and amikacin in the presence the absence of OEOP in sub-inhibitory concentrations. The OEOP presented no direct antibacterial activity in clinically relevant concentrations tested ($\geq 1024 \mu\text{g/mL}$) against strains SA10 and ATCC25923. On the other hand, when the OEOP was added to the culture medium at sub-inhibitory concentration, MIC reductions were verified for neomycin (from 625 to $156 \mu\text{g/mL}$) and amikacin (311 to $124 \mu\text{g/mL}$) against SA10 strain. A similar effect occurred as OEOP was replaced for chlorpromazine, a drug able to inhibit bacterial efflux pumps, suggesting the occurrence of a mechanism of bacterial resistance mediated efflux in SA10 strain. These results show that metabolites secondary of OEOP can act as modulators of resistance to aminoglycosides, indicating a possible use of these metabolites associated with neomycin or amikacin for the treatment of MRSA infections.

KEYWORDS: antimicrobial activity, medicinal plants, bacterial resistance, *Staphylococcus aureus*, *Ocimum basilicum* L..

INTRODUÇÃO

As bactérias patogênicas são um problema de saúde pública que tem se agravado devido ao surgimento de microrganismos multirresistentes, provocando um aumento na prevalência de doenças infecciosas em todo o mundo. De acordo com a Organização Mundial de Saúde, as cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA, *methicillin resistant S. aureus*) estão frequentemente associadas a infecções adquiridas na comunidade e no ambiente hospitalar (WHO, 2014). Esta grave ameaça à saúde pública tem motivado a busca por novos fármacos com potencial ação antimicrobiana (IDSA, 2010).

Atualmente, pesquisadores de várias partes do mundo estão empenhados em investigar a atividade antibiótica de produtos naturais extraídos de plantas (CHOWDHURY et al., 2014; PINTO et al., 2013). Nesta perspectiva, as plantas medicinais nativas da flora brasileira têm se apresentado como uma fonte promissora de princípios ativos com atividade antimicrobiana (DIAZ et al., 2010).

Além da atividade antimicrobiana direta, produtos naturais podem apresentar atividade moduladora da resistência bacteriana aos antibióticos, aumentando a eficácia destes fármacos contra bactérias multirresistentes SAMOILOVA, et al., 2014; SCHINDLER; JACINTO; KAATZ, 2013). A capacidade de modular a atividade de antibióticos pode ser uma estratégia interessante no tratamento de infecções causadas por bactérias multirresistentes. Tal atividade tem sido evidenciada em extratos ou óleos essenciais obtidos de várias espécies botânicas (BARRETO et al., 2014; TINTINO et al., 2013; COUTINHO et al., 2010).

A espécie *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) vulgarmente conhecida como manjerição, alfavaca ou basilicão, apresenta um grande potencial tecnológico na produção de óleos essenciais os quais são utilizados na indústria farmacêutica, bem como nas indústrias de alimentos e de cosméticos (CARVALHO et al., 2006; LABRA et al., 2004;). Na medicina popular, esta planta é usada como antiespasmódico, carminativo, digestivo e tônico (BUNRATHEP et al., 2007). Infusões preparadas a partir de suas folhas têm sido utilizadas também no tratamento de cefaleia, hemorroida e tosse (BATTISTI et al., 2013). O óleo essencial do *Ocimum basilicum* L. (OEOB) apresenta atividades antimicrobiana e antioxidante (ZHANG; LI; WU, 2009; BOZIN et

al., 2006; POLITEO et al., 2006; WANNISSORN et al., 2005; BLANK et al., 2004).

O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana direta, bem como a atividade moduladora da resistência aos antibióticos aminoglicosídeos do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. (OEOB) em linhagem de *Staphylococcus aureus* multirresistente.

MATERIAIS E METODOS

Linhagens bacterianas e drogas

Os ensaios para avaliação da atividade antimicrobiana na presença e na ausência do óleo essencial de *O. basilicum* (OEOB) foram realizados com uma linhagem padrão de *S. aureus* (ATCC 25923) e uma linhagem MRSA de origem clínica (SA10). Estas linhagens foram mantidas em ágar nutriente (AN, Himedia, Índia) inclinado a 4°C. Os antibióticos neomicina e amicacina, bem como os compostos naringenina, carvacrol, timol e clorpromazina foram obtidos da Sigma Chemical Corporation (St. Louis, MO, EUA). Os antibióticos e a clorpromazina foram dissolvidos em água destilada esterilizada. O OEOB foi dissolvido em dimetilsulfóxido (DMSO, MERCK) e as soluções-estoque foram diluídas com água destilada esterilizada.

Material botânico

O óleo essencial de *O. basilicum* (OEOB) foi adquirido da Empresa Viessence (Florianópolis, Santa Catarina, Brasil). As seguintes propriedades físico-químicas foram descritas pelo fornecedor através de laudo técnico: densidade de 0,898 g/mL a 20°C e presença dos fitoquímicos linalol e 1,8-cineol.

Avaliação da atividade Antibacteriana

Uma solução estoque do óleo essencial foi preparada por dissolução de 10.000 µg do óleo em 1mL de dimetilsulfóxido (DMSO), portanto, iniciando com uma concentração inicial de 10.000 µg/mL (10 mg/mL). A solução resultante foi então diluída em água destilada esterilizada em uma quantidade suficiente para atingir uma concentração de 1024 µg/mL. Foram realizados experimentos controles com o DMSO para observação de interferência ou não deste solvente no crescimento dos microrganismos testados e os resultados mostraram que o mesmo não apresentou atividade antibacteriana nas concentrações testadas.

As concentrações inibitórias mínimas (CIMs) do OEOB e da clorpromazina foram determinadas pelo ensaio de microdiluição em

caldo BHI 10% (JAVADPOUR et al., 1996). Para preparação da suspensão bacteriana, um inóculo do crescimento bacteriano em ágar inclinado foi semeado por estrias múltiplas em placas de petri contendo agar nutriente (AN), seguido de incubação à 37°C por 24 horas. Após este período, um inóculo do crescimento bacteriano foi transferido para um tubo falcon contendo 3,0 mL de Brain Heart Infusion (BHI, Himedia, India), o qual foi incubado a 37°C por 24 horas. A partir desta cultura em BHI, preparou-se uma suspensão bacteriana padronizada para uma densidade equivalente a 0,5 na escala Mac Farland (aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL). Esta suspensão foi diluída de modo que a concentração final do inóculo em cada poço atingisse cerca de 10^5 UFC/mL (NCCLS, 2012).

Alíquotas de 100 µL desta suspensão foram distribuídas nos poços de uma placa de microtitulação no sentido alfabético (de A a H). Em seguida, foi realizada a microdiluição de 100 µL do produto-teste a 1024 µg/mL, nos poços de A a G (concentrações 512 a 8 µg/mL), tomando-se o cuidado de homogeneizar a solução por 3 vezes antes da transferência para o poço seguinte. No último poço (H) não foi adicionado o produto-teste, servindo este como controle positivo de crescimento bacteriano. Uma fileira de poços distribuída apenas com caldo BHI (sem inóculo e sem o produto-teste) foi usada como controle negativo de crescimento (controle da contaminação do meio e/ou das microplacas). Em seguida as placas de microtitulação foram incubadas a 37 °C por 24 horas.

Para determinação da CIM, adicionou-se em todos os poços 20 µL de uma solução aquosa de resazurina sódica a 0,01% (m/v). As placas foram incubadas por 1 hora a temperatura ambiente e após este período procedeu-se a leitura, levando-se em consideração que a mudança de coloração de azul para rosa indicava a ocorrência de crescimento bacteriano devido à redução da resazurina (MANN; MARKHAN, 1998). A CIM foi definida como a menor concentração da droga em que não foi observado crescimento bacteriano. Para avaliação da atividade antibacteriana do OEOB foram adotados os critérios estabelecidos por HOLETZ et al. (2002): boa atividade inibitória (CIMs ≤ 100 µg/mL), atividade inibitória moderada (CIMs variando de 100 a 500 µg/mL), atividade inibitória fraca (CIMs de 500-1000 µg/mL) e sem atividade inibitória (CIMs > 1000 µg/mL).

Avaliação do efeito modulador da atividade antibacteriana dos aminoglicosídeos

Para a avaliação da atividade moduladora da ação antibacteriana dos aminoglicosídeos, as CIMs dos antibióticos foram determinadas na presença e na ausência de concentrações sub-inibitórias (1/8 da CIM) do OEOB (128 µg/mL) e da clorpromazina (32 µg/mL). Experimentos-controle mostraram que, nestas concentrações, o óleo e a clorpromazina não apresentaram atividade antibacteriana. As concentrações dos antibióticos variaram de 2500 a 2,4 µg/mL. As placas de microtitulação foram incubadas a 37 °C por 24 h e após este período procedeu-se a leitura com a adição de resazurina sódica a 0,01% conforme descrito acima.

Análises estatísticas

Cada experimento foi realizado em triplicata e os resultados foram normalizados pelo cálculo da média geométrica das CIMs. O erro padrão e o desvio padrão da média geométrica foram determinados. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa Graph Pad Prism, versão 5.02. A ocorrência de diferenças entre o tratamento com antibióticos na ausência e na presença do OEOB e clorpromazina foi examinada através da análise de variância de duas etapas (ANOVA). As diferenças mencionadas acima foram analisadas através do pós-teste de Bonferroni e foram consideradas estatisticamente significantes quando $p < 0,05$.

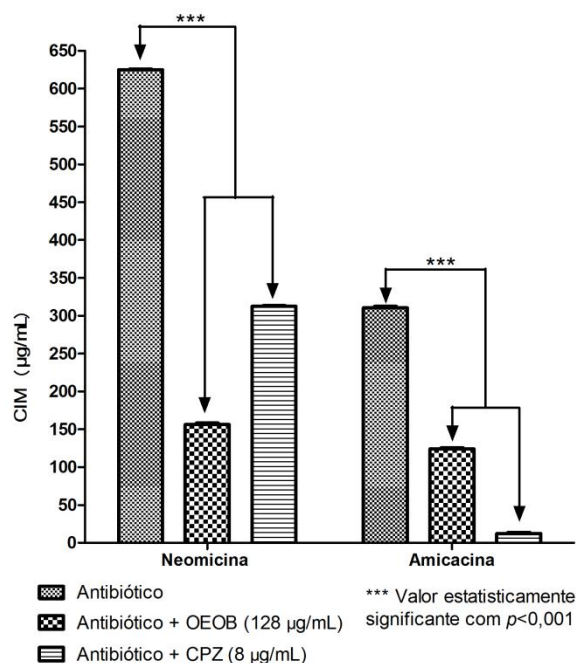
RESULTADOS E DISCUSSÃO

O OEOB não apresentou atividade antibacteriana direta nas concentrações clinicamente relevantes testadas (CIM ≥ 1024 µg/mL) contra as linhagens de *S. aureus* SA10 e ATCC25923. Estes resultados estão de acordo com aqueles obtidos por POZZO et al. (2011), os quais não evidenciaram atividade antibacteriana contra cepas de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase* negativos isolados de mastite caprina. Resultados semelhantes foram obtidos por TRAJANO et al. (2009).

Por outro lado, quando o OEOB foi adicionado ao meio de cultura em uma concentração subinibitória, verificou-se uma redução da CIM da Neomicina (de 625 para 156 µg/mL) e da Amicacina (de 316 para 124 µg/mL) contra a cepa SA10. Um efeito semelhante ocorreu quando o OEOB foi substituído por clorpromazina (Figura 1), uma

droga que atua inibindo bombas de efluxo, sugerindo a ocorrência de um mecanismo de resistência mediado por bomba de efluxo.

Figura 1 – CIM dos antibióticos testados na ausência e na presença do óleo essencial de *O. basilicum* (OEOB) e clorpromazina (CPZ) para MRSA (SA10). Cada resultado representa a média geométrica de três experimentos simultâneos.



Os óleos essenciais são misturas complexas, constituídos principalmente de compostos hidrofóbicos, tais como monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides (BIZZO;HOVELL;REZENDE, 2009). Vários destes compostos estão presentes na composição de óleos essenciais extraídos das folhas de *O. Basilicum*, incluindo eugenol, metil chavicol, linalool, 1,8-cineol, estragol limoneno, α -felendreno, *p*-cimeno, fenchona, camphora, terpineol, geraniol, eugenol e farneseno (HASSANPOURAGHDAM et al., 2010; CHALCHAT;ÖZCAN, 2008; POLITEO;JUKIC;MIKOS, 2007; LABRA et al., 2004). Tais compostos podem interagir com resíduos hidrofóbicos de proteínas e com fosfolípidos da membrana citoplasmática, aumentando a sua permeabilidade (LUZ et al., 2014; SOUZA et al., 2013), o que poderia estar promovendo uma maior assimilação dos aminoglicosídeos pela célula bacteriana.

Por outro lado, tais componentes poderiam também inibir o efluxo dos aminoglicosídeos testados, seja por dissipação da força próton motiva (SIKKEMA, et al., 1994)

ou por ligação em sítios hidrofóbicos de bombas de efluxo (BOLLA et al., 2010). No entanto, estudos adicionais são necessários para elucidar os compostos fitoquímicos do OEOB responsáveis pelo aumento da atividade dos aminoglicosídeos, bem como o mecanismo de ação relacionado com a modulação da resistência aos antibióticos testados.

CONCLUSÃO

Estes resultados indicam potencial biotecnológico do OEOB como agente modulador da resistência aos aminoglicosídeos pois sugerem que este produto natural contém fitoquímicos associados com os aminoglicosídeos neomicina e amicacina poderiam ser utilizados para o tratamento de infecções causadas por MRSA.

REFERENCIAS

BARRETO, H.M.; LIMA, I.S.; COELHO, K.M.R.N.; OSÓRIO, L.R.; MOURÃO, R.A.; SANTOS, B.H.C.; COUTINHO, H.D.M.; ABREU, A.P.L.; MEDEIROS, M.G.F.; CITÓ, A.M.G.L.; LOPES, J.A.D. Effect of *Lippia origanoides* H.B.K. essential oil in the resistance to aminoglycosides in methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. **European Journal of Integrative Medicine**, v.6, p.560-564, 2014;

BATTISTI, C.; GARLET, T.M.B.; ESSI, L.; HORBACH, R.K.; DE ANDRADE, A.; BADKE, M.R. Plantas medicinais utilizadas no município de Palmeira das Missões, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v.11, n.3, p.338-348, 2013;

BIZZO, H.R.; HOVELL, A.M.C.; REZENDE, C.M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v.32, n.3, p.588-594, 2009;

BLANK, A. F.; FILHO, J. L. S. C.; NETO, A. L. S.; ALVES, P. B.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; SILVA-MANN, R.; MENDONÇA, M.C. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de manjerição e alfavaca. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.1, p.162-165, 2004;

BOZIN, B.; DUKIC, N.M.; SIMIN, N.; ANACKOV, G. Characterization of the volatile composition of essential oils of some *Lamiaceae* species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.54, p.1822-1828, 2006;

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, p.223-253, 2004;

BUNRATHEP, S.; PALANUVEJ, C.; RUANGRUNGSI, N. Chemical compositions and antioxidative activities of essential oils from four *Ocimum* species endemic to Thailand. **Journal of Health Research**, v.21, p.201-203, 2007;

BUTAYE, P.; CLOECKAERT, A.; SCHWARZ, S. Mobile genes coding for efflux-mediated antimicrobial resistance in Gram-positive and Gram-negative bacteria. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.22, p.205-210, 2003;

CARVALHO, F. J. L. S.; BLANK, A. F.; ALVES, P. B.; EHLERT, P. A. D.; MELO, A. S.; CAVALCANTI, SCH.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; SILVA-MANNR. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, p.24-30, 2006;

CHAUCHAT, J.C.; ÖZCAN, M.M. Comparative essential oil composition of flowers, leaves and stems of basil (*Ocimum basilicum* L.) used as herb. **Food Chemistry**, v.110, p.501-503, 2008;

CHOWDHURY, A.; AZAM, S.; JAINUL, M.A.; FARUQ, K.O.; ISLAM, A. Antibacterial activities and *In vitro* anti-inflammatory (membrane stability) properties of methanolic extracts of *Gardenia coronaria* leaves. **International Journal of Microbiology**, v. 2014, p. 1-5, 2014;

COUTINHO, H.D.M.; COSTA, J.G.M.; FALCÃO-SILVA, V.S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J.P.; LIMA, E.O. *In vitro* additive effect of *Hyptis martiusii* in the resistance to aminoglycosides of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, p. 1002-1006, 2010;

DIAZ, M.A.N.; ROSSI, C.C.; MENDONÇA, V.R.; SILVA, D.M.; RIBON, A.O.B.; AGUILAR, A.P.; MUÑOZ, G.D. Screening of medicinal plants for antibacterial activities on *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 724-728, 2010;

HASSANPOURAGHDAM, M.B.; GOHARI, G.R.; TABATABAEI, S.J.; DADPOUR, M.R.

Inflorescence and leaves essential oil composition of hydroponically grown *Ocimum basilicum* L. **Journal of the Serbian Chemical Society**, v.75, n.10, p. 1361-1368, 2010;

HOLETZ, F.B. *et al.*, Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.97, p.1027-1031, 2002;

IDSA, INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA. The 10x20 initiative: pursuing a global commitment to develop 10 new antibacterial drugs by 2020. **Clinical Infectious Diseases**, v. 50, p. 1081-1083, 2010;

JAVADPOUR, M. M.; JUBAN, M. M.; LO, W. C.; BISHOP, S. M.; ALBERTY, J. B. De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. **Journal Medicinal Chemical**, v.39,n.16, p.3107-3113, 1996;

LABRA, M.; MIELEB, M.; LEDDAB, B.; GRASSIC, F.; MAZZEIB, M.; SALAC, F. Morphological characterization, essential oil composition and DNA genotyping of *Ocimum basilicum* L. cultivars. **Plant Science**, v.167, p.725-731, 2004;

LUZ, I.S.; MELO, A.N.F.; BEZERRA, T.K.A.; MADRUGA, M.S.; MAGNANI, M.; SOUZA, E.L. Sublethal amounts of *Origanum vulgare* L. essential oil and carvacrol cause injury and changes in membrane fatty acid of *Salmonella Typhimurium* cultivated in a meat broth. **Foodborne pathogens and disease**, v.11, n.5, p.357-361, 2014;

MANN, C.M.; MARKHAN, J.L. A new method for determine the minimum inhibitory concentration of essential oils. **Journal of Applied Microbiology**, v.84, p.538-544, 1998;

NCCLS. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. Approved standard, 6th ed, NCCLS document M7-A6. Wayne: NCCLS. 2003;

PINTO, C.P.; RODRIGUES, V.D.; PINTO, F.P.; PINTO, R.P.; UETANABARO, A.P.T.; PINHEIRO, C.S.R.; GADEA, S.F.M.; SILVA, T.R.S.; LUCCHESI A.M. Antimicrobial activity of *Lippia* species from the Brazilian semiarid region traditionally used as antiseptic and anti-infective agents. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.2013, p.1-5, 2013;

POLITEO, O.; JUKIC, M.; MILOS, M. Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (*Ocimum basilicum* L.) compared with its essential oil accepted. **Food Chemistry**, v.101, p.379-385, 2006;

POZZO, M.D.; VIEGAS, J.; SANTURIO, D.F.; ROSSATTO, L.; SOARES, I.H.; ALVES, S.H.; COSTA, M.M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a *Staphylococcus* sp isolados de mastite caprina. **Ciência Rural**, v. 41, n.4, p.667-672, 2011;

SAMOILOVA, Z.; SMIRNOVA, G.; MUZYKA, N.; OKTYABRSKY. Medicinal plant extracts variously modulate susceptibility of *Escherichia coli* to different antibiotics. **Microbial Research**, v. 169, p. 307-313, 2014;

SARTORATTO, A.; MACHADO, A.L.M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G.M.; DUARTE, M.C.T.; REHDER, V.L.G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.35, p.275-280, 2004;

SOUZA, E.L.; OLIVEIRA, C.E.V.; STAMFORD, T.L.M.; NETO, N.J.G. Influence of carvacrol and thymol on the physiological attributes, enterotoxin production and surface characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, p. 29-35, 2013;

TINTINO, S.R.; CUNHA, F. A. B.; SANTOS, K. K. A.; GUEDES, G.M.M.; SOUZA, C.E. S.; EDINARDO, F.F.M.; BRAGA, M.F.B.M.; ANDRADE, J. C.; COSTA, J.G.M., FREITAS, M.A.; COUTINHO, H.D.M. Atividade moduladora de extratos etanólico e hexânico de raiz de *Costuscf. arabicus* sobre drogas antimicrobianas. **Revista brasileira Biociências**, v.11, n.2, p.157-162, 2013;

TRAJANO, V.N.; LIMA, E.O.; SOUZA, E.L.; TRAVASSOS, A.E.R. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.3, p.542-545, 2009;

TROMBETTA, D.; CASTELLI, F.; SARPIETRO, M.G.; VENUTI, V.; CRISTANI, M.; DANIELE, C.; SAIJA, A.; MAZZANTI, G.; BISIGNANO, G. Mechanisms of antibacterial action of three

monoterpens. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.49,p.2474-2478, 2005;

WANNISSORN, B.; JARIKASEM, S.; SIRIWANGCHAI, T.; THUBTHIMTHED, S. Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. **Fitoterapia**, v.76, p.233-236, 2005;

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Antimicrobial Resistance. Global Report on Surveillance**. 2014. 256p. Disponível em:<<http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/> Acesso em: 02 Abr. 2014;

ZHANG, J.W.; LI, S.K.; WU, W.J. The main chemical composition and *in vitro* antifungal activity of the essential oils of *Ocimum basilicum* Linn.var. *pilosum* (Willd.) Benth. **Molecules**, v.14, p.273-278, 2009.