

Atividade antimicrobiana in vitro de produtos vegetais em otite externa aguda

Janaina Cândida Rodrigues Nogueira ¹,
Margareth de Fátima Melo Diniz ², Edeltrudes O.
Lima ³

In vitro antimicrobial activity of plants in Acute Otitis Externa

Palavras-chave: microbiologia, otite externa, plantas.
Keywords: microbiology, otitis external, plants.

Resumo / Summary

O tite externa aguda é a inflamação do conduto auditivo externo, e plantas medicinais podem ser utilizadas, na cultura popular, para seu tratamento. **Objetivo:** Avaliar atividade antimicrobiana in vitro de *Aleolanthus suaveolens*, *Caryophyllus aromaticus*, *Cymbopogon citratus*, *Matricaria chamomila*, *Pitbecellobium avaremotemo*, *Plectranthus amboinicus* e *Ruta graveolens* sobre agentes etiológicos de otite externa. **Casística e Métodos:** A concentração inibitória mínima de extratos e óleos destas plantas foi obtida em amostras de otite externa. **Resultados:** *Staphylococcus aureus* em 10 culturas, *Pseudomonas aeruginosa* em 8, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, em associação, em 5 culturas e *Candida albicans* e *Candida krusei* em 4 culturas. *P. aeruginosa* foi resistente a todos os extratos e óleos essenciais testados; os extratos de *A. suaveolens*, *P. avaremotemo* e de *R. graveolens* foram inativos, o óleo essencial de *C. aromaticus* e *M. chamomila* foram ativos contra 3 cepas de *S. aureus* e as cepas de *Candida*; Sete das cepas de *S. aureus* foram sensíveis ao extrato de *P. amboinicus*, mas o óleo não mostrou atividade, 4 cepas de *S. aureus* e as cepas de *Candida* foram sensíveis ao óleo essencial de *R. graveolens*. **Conclusão:** Algumas plantas apresentaram resultados satisfatórios, dependendo do agente etiológico, porém se faz necessário estudos mais detalhados, para melhorar o aproveitamento destas plantas.

Acute Otitis Externa is an inflammation of the outer auditory meatus, and according to popular saying, medicinal plant extracts can be used in its treatment. **Aim:** to assess the in vitro antimicrobial activity of the following plants: *Aleolanthus suaveolens*; *Caryophyllus aromaticus*; *Cymbopogon citratus*; *Matricaria chamomila*; *Pitbecellobium avaremotemo*; *Plectranthus amboinicus* and *Ruta graveolens* on the germs that cause otitis externa. **Materials and Methods:** the minimum inhibitory concentration of extracts and oils from these plants was obtained from otitis externa samples. **Results:** *Staphylococcus aureus* in 10 cultures, *Pseudomonas aeruginosa* in 8, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* together in 5 cultures and *Candida albicans* and *Candida krusei* in 4 cultures. *P. aeruginosa* was resistant to all oils and extracts tested; extracts from *A. suaveolens*, *P. avaremotemo* and *R. graveolens* were inactive; the essential oil from *C. aromaticus* and *M. chamomila* were active against 3 strains of *S. aureus* and the *Candida* strains; seven of the *S. aureus* strains were sensitive to the *P. amboinicus* extract; however, the oil was inactive against 4 *S. aureus* strains and the *Candida* strains were sensitive to the *R. graveolens* essential oil. **Conclusion:** depending on the etiological agent, some plants presented satisfactory results, however we still need more detailed studies in order to better use these plants.

¹ Mestrado, médico.

² Doutorado, Diretora do centro de ciências de saúde /UFPB.

³ Doutorado, Professora Farmacologia UFPB.

UFPB Laboratório de Tecnologia Farmacêutica.

Endereço para correspondência: Janaina Cândida Rodrigues Nogueira - Av. Gal Bento da Gama 192 Torre João Pessoa PB 58040-090.

Este artigo foi submetido no SGP (Sistema de Gestão de Publicações) da RBORL em 19 de dezembro de 2006. cod. 3562

Artigo aceito em 11 de setembro de 2007.

INTRODUÇÃO

A otite externa consiste na inflamação da pele do canal auditivo externo, freqüentemente associada com infecção secundária bacteriana e/ou fúngica da pele macerada e do tecido celular subcutâneo.^{1,2} Classifica-se em difusa, ou seja, uma dermatite, onde ocorre diminuição de produção ceruminosa, descamação do epitélio e edema; ou localizada, neste caso furúnculo, pela infecção do folículo pilosebáceo.^{1,2} Na medicina popular é freqüente o uso de plantas medicinais para doenças de ouvido, sendo conhecidas plantas como arruda, macassá, barbatimão, entre outras, dependendo da região brasileira, sem, no entanto, haver estudos que justifiquem este uso. A Organização Mundial de Saúde preconiza o uso de plantas medicinais, sobretudo em países em desenvolvimento, nos programas de saúde pública.^{3,4} As plantas podem ser utilizadas na forma de infusões, macerados, sucos, tinturas, infiltrados ou cataplasmas, para tratamento de enfermidades.^{3,5} Possuem várias vias metabólicas secundárias que dão origem a compostos incluindo alcalóides, flavonóides, isoflavonóides, taninos, cumarinas, glicosídeos, terpenos, poliacetilenos, que são específicos a determinadas famílias, gênero ou espécies e que têm funções diversas.⁵ A otite externa tem tratamento preferencialmente tópico, com a resistência antimicrobiana surgindo atualmente como um risco à eficácia terapêutica. Diante da prevalência e morbidade desta patologia e da possibilidade de viabilizar outras formas de tratamento, este estudo teve por objetivo avaliar a ação antimicrobiana in vitro de óleos essenciais e extratos de plantas medicinais, sobre microrganismos obtidos de pacientes portadores de otite externa aguda.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

Vinte e sete pacientes com diagnóstico clínico de OEA (otite externa aguda) sem perfuração de membrana timpânica nem medicação prévia⁶ foram selecionados, independente de idade e sexo, durante o período de três meses, sendo realizada coleta de material do ouvido comprometido, através de Swab, obedecendo-se as diretrizes e normas regulamentares de pesquisa envolvendo seres humanos Resolução nº 196/1996 do Ministério da Saúde.⁷ O estudo foi aprovado pelo comitê de Ética do Hospital Universitário Lauro Wanderley, n. do protocolo 341, e o paciente assinava o termo de Consentimento Livre e Esclarecido, antes de se submeter à coleta e cultura. Para avaliação de atividade antibacteriana dos extratos e óleos essenciais, foram isoladas e identificadas espécies bacterianas conforme metodologia utilizada na rotina microbiológica⁸⁻¹⁰ e as amostras foram mantidas em ágar Miller Hinton (Difco Laboratories Ltda.). Na otomicose, foram isoladas e identificadas leveduras, através das características macro e micromorfológicas e bioquímicas.¹¹⁻¹⁵ As cepas foram mantidas em ágar Sabouraud dextrose (ASD) a 2% (Difco Laboratories Ltda), estocadas a temperatura ambiente e a 4°C. Os extratos e óleos essenciais utilizados nos ensaios de atividade antimicrobiana foram obtidos das espécies vegetais incluídas no Quadro 1. Para a avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos, os mesmos foram testados nas concentrações de 5000, 2500, 1250, 625, 313, 156 e 78µg/ml, solubilizados em dimetil-sulfóxido-DMSO, numa proporção até 10% e os óleos essenciais foram testados nas concentrações de 8, 4, 2, 1, 0,5 e 0,25%, conforme a técnica de Allegrini et al.^{16,17}

Quadro 1. Relação das espécies de plantas e respectivos produtos utilizados para avaliação de atividade antimicrobiana sobre bactérias e fungos.

Gênero/ Espécie Família	Nome popular	Obtenção	Parte da planta	Produto testado
<i>Aleolanthus suaveolens</i> Spreng. Labiatae	Macassá	Adquirido em loja de produtos naturais	Folha	Extrato
<i>Caryophyllus aromaticus</i> L. Myrtaceae	Cravo-da-índia	Adquirido em loja de produtos naturais	Folha	Óleo essencial
<i>Cymbopogon citratus</i> Stapf. Gramineae	Capim-santo	Horto de plantas medicinais UFPB	Folhas	Óleo essencial
<i>Matricaria chamomila</i> (L) Rausch Asteraceae	Camomila	Adquirido em loja de produtos naturais	Folhas e Flores	Óleo essencial
<i>Pithecellobium avaremotemo</i> Mart. Fabaceae (Leguminosae)	Barbatimão	Adquirido em loja de produtos naturais	Casca do Caule	Extrato
<i>Plectranthus amboinicus</i> Lour Lamiaceae	Hortelã da folha grossa	Horto de plantas medicinais UFPB	Folha	Óleo essencial/extrato
<i>Ruta graveolens</i> L. Rutaceae	Arruda	Horto de plantas medicinais UFPB	Folha	Óleo essencial/extrato

RESULTADOS

Foram observados *Staphylococcus aureus* em 10 culturas (37%), *Pseudomonas aeruginosa* em 8 culturas (29,6%), *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* em associação em 5 culturas (18,5%), e fungos do gênero *Candida* em 4 culturas, (14,9%), em todos os casos, associados a bactérias Gram positivas e Gram negativas.

Neste estudo avaliou-se a atividade antibacteriana e antifúngica in vitro dos extratos e/ou óleos essenciais, obtidos das seguintes plantas medicinais: macassá, barbatimão, cravo-da-índia, capim-santo, camomila, hortelã da folha grossa e arruda contra doze cepas de *P. aeruginosa*, oito cepas de *S.aureus*, uma cepa de *C. albicans* e uma cepa de *C. krusei*.

Pode-se observar que todas as cepas das espécies

bacterianas e fúngicas foram resistentes ao extrato de *A. suaveolens*, *Pitbecellobium avaremotemo* e *Ruta graveolens*.

Na Tabela 1 está registrado o resultado da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *C. aromaticus*. O gênero *Pseudomonas* foi totalmente resistente a esse óleo essencial, em todas as concentrações. Na concentração de 4% o mesmo apresentou atividade sobre o crescimento de três cepas de *Staphylococcus* e as duas cepas de *Candida*. Pode-se observar que *C. albicans* e *C. Krusei* apresentaram-se sensíveis até a concentração de 1%, com halos de inibição de 10 mm de diâmetro.

O óleo essencial de *M. chamomila* não produziu efeito inibitório sobre o gênero *Pseudomonas*, no entanto, na concentração de 4%, produziu atividade inibitória sobre o crescimento de três cepas de *Staphylococcus* e as duas

Tabela 1. Média dos halos de inibição (mm) da avaliação da CIM do óleo essencial de *C. aromaticus* contra bactérias e fungos, em meio sólido.

Microorganismos	Óleo essencial de <i>C. aromaticus</i> (%)						Controle Microorganismos
	8	4	2	1	0,5	0,25	
<i>S. aureus</i> (1)	13	10	8	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (2)	0	0	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (3)	12	3	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (4)	11	0	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (5)	0	0	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (6)	10	8	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (7)	13	10	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (8)	12	10	0	0	0	0	+
<i>C. albicans</i> (1)	20	16	14	10	0	0	+
<i>C. krusei</i> (2)	22	18	15	10	0	0	+

+: Controle do microorganismo no meio de cultura isento de antimicrobiano.

Tabela 2. Média dos halos de inibição (mm) da avaliação da CIM do óleo essencial de *M. chamomila* contra bactérias e fungos, em meio sólido.

Microorganismos	Óleo essencial de <i>M. chamomila</i> (%)						Controle Microorganismos
	8	4	2	1	0,5	0,25	
<i>S. aureus</i> (1)	0	0	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (2)	14	10	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (3)	0	0	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (4)	10	8	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (5)	0	0	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (6)	0	0	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (7)	15	10	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (8)	14	10	0	0	0	0	+
<i>C. albicans</i> (1)	14	10	0	0	0	0	+
<i>C. krusei</i> (2)	14	12	10	0	0	0	+

+: Controle do microorganismo no meio de cultura isento de antimicrobiano.

cepas do gênero *Candida*, com halos de inibição variáveis de 10 a 12mm de diâmetro (Tabela 2).

O extrato de *P.amboinicus*, no presente estudo, mostrou-se ativo contra sete das oito cópias de *Staphylococcus*, com média dos halos de inibição de 13mm, porém não apresentou atividade contra *P. aeruginosa* e *Candida ssp* (Tabela 3). O óleo desta planta foi pouco efetivo, neste estudo, apresentando ação contra duas cepas de *S. aureus* e a cepa de *C. krusei* nas concentrações de 8 e 4% para a bactéria e 8, 4 e 2% para o fungo, estes dados estão

demonstrados na Tabela 4.

O óleo essencial e extrato de *Ruta graveolens* foram analisados quanto sua ação antimicrobiana, uma vez que esta planta tem uso popular reconhecido na patologia da orelha externa. O óleo essencial de *R. graveolens*, a 4%, inibiu quatro cepas de *Staphylococcus* e todas as cepas de *Candida*, com halos de inibição entre 10 a 13 mm diâmetro, estes achados podem ser observados na Tabela 5, porém o extrato não apresentou atividade.

Tabela 3. Média dos halos de inibição (mm) da avaliação da CIM do extrato de *P. amboinicus* contra bactérias e fungos, em meio sólido.

Microorganismos	Extrato de <i>P. amboinicus</i> (mg/ml)							Controle
	5000	2500	1250	625	313	156	78	Microrganismo
<i>S. aureus</i> (1)	0	0	0	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (2)	17	13	0	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (3)	20	15	12	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (4)	17	13	7	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (5)	15	12	8	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (6)	15	12	0	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (7)	18	14	12	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (8)	18	14	12	0	0	0	0	+
<i>C. albicans</i> (1)	0	0	0	0	0	0	0	+
<i>C. krusei</i> (2)	0	0	0	0	0	0	0	+

+: Controle do microorganismo no meio de cultura isento de antimicrobiano.

Tabela 4. Média dos halos de inibição (mm) da avaliação da CIM do óleo essencial de *P. amboinicus* contra bactérias e fungos, em meio sólido.

Microorganismo	Óleo essencial de <i>Pamboinicus</i> (%)						Controle
	8	4	2	1	0,5	0,25	Microrganismo
<i>S. aureus</i> (1)	0	0	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (2)	0	0	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (3)	12	10	7	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (4)	10	0	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (5)	0	0	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (6)	12	10	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (7)	0	0	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (8)	0	0	0	0	0	0	+
<i>C. albicans</i> (1)	0	0	0	0	0	0	+
<i>C. krusei</i> (2)	14	12	10	0	0	0	+

+: Controle do microorganismo no meio de cultura isento de antimicrobiano

Tabela 5. Média dos halos de inibição (mm) da avaliação da CIM do óleo essencial de *R. graveolens* contra bactérias e fungos, em meio sólido.

Microrganismo	Óleo essencial de <i>R. graveolens</i> (%)						Controle
	8	4	2	1	0,5	0,25	Microrganismo
<i>S. aureus</i> (1)	15	10	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (2)	10	0	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (3)	12	10	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (4)	15	10	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (5)	10	0	0	0	0	0	+
<i>S. aureus</i> (6)	16	12	10	8	0	0	+
<i>S. aureus</i> (7)	20	7	14	10	0	0	+
<i>S. aureus</i> (8)	10	8	0	0	0	0	+
<i>C. albicans</i> (1)	15	10	0	0	0	0	+
<i>C. krusei</i> (2)	17	13	10	0	0	0	+

+: Controle do microrganismo no meio de cultura isento de antimicrobiano.

DISCUSSÃO

A otite externa é um processo inflamatório infeccioso, que acomete a pele do conduto auditivo externo e geralmente tem etiologia polimicrobiana.² Hwang, Chu e Liu (2002)¹⁸ realizaram estudo bacteriológico em 161 pacientes e observaram que *S. aureus* foi tão freqüente quanto *P. aeruginosa* em pacientes com otite externa. Estes dados ratificam os achados neste estudo, uma vez que não houve diferença estatisticamente significativa entre estas bactérias. Kuczkowski et al. (2000)¹⁹, observando 55 culturas de pacientes com otite externa, obtiveram com maior freqüência *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Proteus mirabilis*, semelhante aos dados encontrados neste estudo, podendo-se considerar que a principal etiologia da otite externa é bacteriana e ocasionalmente fúngica.¹⁸ Em relação aos fungos, foi encontrado o gênero *Candida* em 4 culturas, associados a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, achados semelhantes foram observados em estudo realizado por Ologe et al. (2002)²⁰, onde em 141 pacientes com suspeita de Otomíose, foi confirmada patologia em 76 pacientes (53.9%), sendo *Aspergillus sp* (63.4%), *Candida* (35.5%) e *Mucor* (1.3%) os fungos mais encontrados.

Apesar da alta tecnologia e investimentos das indústrias farmacêuticas na produção de antibióticos cada vez mais potentes, é crescente a resistência microbiana.²¹ O uso de componentes de plantas com fins terapêuticos vem aumentando no Brasil, e de acordo com a Organização Mundial de Saúde, estas poderão ser a melhor fonte para se obter uma variedade de drogas.^{21,22} No entanto, o uso destas plantas não pode se realizar de forma empírica, mas baseado em estudos controlados de eficácia e toxicidade.

O *A. suaveolens*, macassá, embora bastante utilizado na medicina popular, para doenças de ouvido, não apresenta relatos na literatura tanto em ação antimicrobiana quanto em ação analgésica e antiinflamatória que justifiquem seu uso, bem como neste estudo foi ineficaz contra as cepas testadas.

O extrato de *P. avaremotemo*, embora ativo contra bactérias e fungos em diversos estudos, não demonstrou atividade contra os microrganismos da orelha externa.²³ Estes achados podem dever-se à virulência dos patógenos e/ou as características do extrato.

A atividade de óleos essenciais e extratos de plantas contra bactérias e fungos deve-se à presença de fitoconstituintes, cuja concentração pode variar dependendo de inúmeros fatores, que vão desde o cultivo da planta, a sua coleta, até a forma de obtenção do extrato ou óleo essencial.^{23,24}

Tem-se observado que os óleos essenciais são mais efetivos contra bactérias Gram positivas do que Gram negativas, sem, no entanto, haver explicação científica para este fato.²¹ Neste estudo a bactéria Gram negativa *P. aeruginosa* foi resistente a todos os óleos testados, enquanto que a bactéria Gram positiva *S. aureus* mostrou-se susceptível a estes, dependendo da planta testada e de sua concentração.

O óleo essencial de *C. aromaticus* apresentou ação antimicrobiana sobre bactérias Gram positivas, tanto na literatura estudada quanto neste trabalho.^{23,24} Observou-se que o óleo essencial de *C. citratus* não apresentou ação contra bactérias e fungos obtidos neste estudo, no entanto, Araújo (2003)²⁵ observou ação deste óleo na concentração de 8% contra fungos deste gênero, mas não contra bactérias assemelhando-se a este estudo.

O óleo essencial de *M. chamomila* inibiu o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* e seu extrato hidroalcoólico inibiu o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus* do grupo B, *Streptococcus salivarius*, segundo estudo de Jakovlev²⁶. A *M. chamomila* apresentou em inúmeros trabalhos atividade antimicrobiana, inclusive contra cepas de *P. aeruginosa*²⁷.

Catillo e González observaram que tanto o extrato quanto o óleo essencial de *P. amboinicus*, coletada em Cuba, apresentou atividade contra bactéria gram-negativas e gram-positivas, como também contra leveduras e dermatofagóides, sendo a ação do extrato mais efetiva.²⁸

No estudo de Araújo 25, o óleo essencial de *R. graveolens* apresentou atividade sobre espécies de leveduras, porém não apresentou atividade sobre *S. aureus*, semelhante aos achados de Ross et al.²⁹. No entanto, Sá et al. observaram atividade deste sobre cepas de *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis*²⁵. Estas diferenças podem ser decorrentes da concentração do óleo essencial e das cepas microbianas testadas.

Estudos mais abrangentes com plantas medicinais em otite externa aguda seriam mais adequados, sobretudo com aquelas plantas já consagradas pela medicina popular. Deve-se, no entanto, salientar, que esta é a primeira abordagem realizada na região Nordeste com intuito de observar se algumas plantas apresentavam efeito sobre os agentes etiológicos da otite externa aguda, devendo-se, portanto, realizar futuros estudos, pois esta é uma alternativa terapêutica promissora, sobretudo para a população mais carente.

CONCLUSÃO

S. aureus, *P. aeruginosa* e fungos do gênero *Candida* foram os microrganismos mais observados em cultura de pacientes com otite externa aguda. *P. aeruginosa* foi resistente a todos os extratos e óleos essenciais testados. O óleo essencial de *C. aromaticus* e de *M. chamomila* a 4% inibiu o crescimento de três cepas de *S. aureus* e todas as cepas de *Candida*, sendo esta atividade obtida até a concentração de 1%, o óleo essencial de *R. graveolens* a 4% inibiu as cepas de *Candida* e 4 cepas de *S. aureus* e o extrato de *P. amboinicus* apresentou atividade inibitória sobre sete cepas de *S. aureus*, com resistência do gênero *Candida*. Algumas plantas apresentaram efeito satisfatório dependendo do agente etiológico, mas faz-se necessário estudos mais detalhados e abrangentes em relação ao uso destas plantas medicinais, pois pode ser uma alternativa terapêutica promissora em futuro próximo, sobretudo para a população mais carente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hungria H. Otorrinolaringologia. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara

- Koogan; 1991. cap. 34, p.297-301.
2. Guatimosim MHE: "Doenças da Orelha". Sociedade Brasil. ORL. Tratado de Otorrinolaringologia. 1ª ed. São Paulo, Editora Roca: 2002.p.3-20.
3. Carriconte C, Mores D, Frishtchen M Von, Cardoso Jr LE: Plantas Medicinais & Plantas alimentícias. Centro Nordestino de Medicina Popular: Universidade Federal Rural de Pernambuco, Olinda; 1995. 1:63-5.
4. Martins ER, Castro DM, Castellani DC, Dias JE. Plantas Medicinais. Viçosa, UFU: 1998. p. 220.
5. Diniz MFFM, Oliveira RAG, Malta J, Medeiros ACD. Memento Fitoterápico: As Plantas como Alternativa Terapêutica. 1. ed., João Pessoa: Editora Universitária; 1997. 1:205.
6. Goldenberg D, Golz A, Netzer A, Joachims HZ. The use of otic powder in treatment of acute external otitis. Am J Otolaryngol 2002;23(3):142-7.
7. Resolução 196/96 Do Conselho Nacional De Saúde, Comissão Nacional de Ética em pesquisa. Normas para pesquisa envolvendo seres humanos. Série Cadernos Técnicos. Ministério da Saúde, Brasília, 2000, 138p.
8. McFaddin JF. Biochemical Tests for identification of Medical Bacteria. Baltimore: William & Wilkins Co; 1980.
9. Cleeland R, Squires E. Evolution of new antimicrobials "in vitro" and experimental animal infections. In: Lorian, v. antibiotics in laboratory medicine. Baltimore: Williams C Wilkins; 1999. p.739-87.
10. Kriger Van-Rij NJW: The Years: a taxonomic study. 3 ed., Amsterdam: Elsevier Science Publishers: 1984. p. 245-270 V. 3.
11. Konemam EW, Roberts GD. Micologia: practica de laboratório, 3. ed. Buenos Aires: Medica Pan Americana: 1987; 221p.
12. McGinnis MR. Laboratory Handbook of Medical Mycology. New York: Academic Press:1980, p. 411.
13. Larone DH: Medical import fungi. 3ed. Washington: ASM Press: 1995, p. 274.
14. Casals IB. Tablet sensitivity testing of pathogenic fungi. J Clin Pathol 1979;32:719-22.
15. Hoog GS, Guarro J. Atlas of Clinical Fungi. Reus: Universitat Rovira i Virgili, 1995.
16. Bauer AW, Kirby WM, Sherris SC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am J Clin Pathol 1966;45:493-6.
17. Allegrini I, Bovchberg MS, Maillols H. Émulsions d'huiles essentielles, fabrication et applications en microbiologie. Societe de Pharmacie de Moutpellier 1973; 33(1):73-86.
18. Sander R: Otitis externa: a practical guide to treatment and prevention. Am Fam Physician 2001; 63(5):927-36, 941-2.
19. Kuczkowski J, Samet A, Brzoznowski W. Bacteriologic evaluation of otitis externa and chronic otitis media. Otolaryngol Pol 2000;54(5):551-6.
20. Ologe FE, Nwabuisi C. Treatment outcome of otomycosis in Ilorin, Nigeria. West Afr J Med 2002;21(1):34-6.
21. Craveiro AA, Fernandes AG, Andrade CHS, Matos FJA, Alencar JW, Machado MIL. Óleo Essencial de plantas do Nordeste. Fortaleza: Ed. UFC: 1981, p. 209.
22. Cardoso HT, Santos MT. Estudos sobre a presença de antibióticos nos vegetais. Bras Med 1946;62:67-70.
23. Carlson HJ, Douglas HG, Robertson J. Antibacterial substances separated from plants. J Bacteriol 1948;55:241-8.
24. Begum J, Yusuf M, Chowdhury JU, Wahab MA. Studies on essential oils for their antibacterial and antifungal properties. Part-I: Preliminary screening of 35 essential oils. J Sci Ind Res 1993;28(4):25-34.
25. Araújo JCLV. Perfil de sensibilidade de microrganismos oportunistas de origem clínica e ambiental a óleos essenciais. 2003.77p.

-
- Tese (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.
26. Jakovlev V, Isaac O, Flaskamp E. Pharmacological investigation with compounds of chamazulene and matricine. *Planta Méd* 1983;49:67-73.
27. Matos FJA: Farmácias vivas; sistema de utilização de plantas medicinais projeto para pequenas comunidades. 2 ed. Fortaleza: EUFC: 1994: 122p.
28. Castillo RAM, González VP. *Plecthranthus amboinicus* (Lour.) Spreng *Rev Cubana Plant Med* 1999;3(3):110-5.
29. Ross SA, El-Keltawi NE, Megalla SE. Antimicrobial activity of some Egyptian aromatic plants. *Fitoterapia* 1980;51(2):201-6.