

AÇÃO ANTIMICROBIANA DE SABONETES LÍQUIDOS À BASE DO EXTRATO E DO ÓLEO VOLÁTIL DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis* L.)

ANTIMICROBIAL ACTION OF LIQUID SOAPS BASED ON ROSEMARY EXTRACT AND ROSEMARY VOLATILE OIL (*Rosmarinus officinalis* L.)

Crispiniana de Jesus RIBEIRO^{1,2}; Fernanda Oliveira de Gaspari de GASPI^{1,3}; Daniele Michelin PAGANOTTE^{1,3}.

¹Centro Universitário Hermínio Ometto – FHO|Uniararas.

²Discente do Curso de Farmácia.

³Docente do Curso de Farmácia.

Autora responsável: Daniele Michelin Paganotte. Endereço: Av. Maximiliano Baruto, n. 500, Jardim Universitário, Araras – SP. CEP: 13.607-339, e-mail: <danielemichelin@uniararas.br>.

RESUMO

O uso irresponsável dos antimicrobianos vem estimulando a resistência antimicrobiana e, simultaneamente, pesquisas estão sendo desenvolvidas com a finalidade de se investigarem plantas que possam apresentar ação sobre micro-organismos patogênicos. A *Rosmarinus officinalis* L., conhecida como alecrim, é popularmente utilizada para tratar distúrbios intestinais, como má digestão e gases, além de possuir propriedades antisséptica, antifúngica, antioxidante, antimicrobiana, entre outras. A presença do cineol (1,8-cineol ou eucaliptol) no óleo volátil demonstrou ser o ativo majoritário com atividade antisséptica e bactericida. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico e do óleo volátil de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), além de desenvolver uma formulação antisséptica de sabonete líquido para higienização das mãos. A atividade antimicrobiana foi testada contra micro-organismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*, por meio do método difusão em ágar utilizando-se cilindros de aço inox, em comparação com agentes antimicrobianos já utilizados comercialmente. O extrato de alecrim apresentou atividade antimicrobiana diante das cepas de *S. aureus* e *C. albicans*, já o óleo volátil inibiu o crescimento dos três micro-organismos testados. Para as formulações, o sabonete acrescido do extrato de alecrim apresentou atividade diante dos *S. aureus* e *C. albicans*, e o sabonete acrescido do óleo

volátil de alecrim teve atividade diante da *E. coli* e *C. albicans*. Foi possível a obtenção do extrato e do óleo volátil de alecrim e a posterior incorporação destes em formulações de sabonetes líquidos para avaliação da atividade antimicrobiana. O óleo volátil e o extrato de alecrim apresentaram atividade antimicrobiana diante de alguns dos micro-organismos testados, assim como quando incorporados nos sabonetes, quando analisados pela técnica de difusão em ágar.

Palavras-chave: *Rosmarinus officinalis* L.. Atividade Antimicrobiana. Sabonete.

ABSTRACT

Irresponsible use of antimicrobials is stimulating antimicrobial resistance and, simultaneously, researches are being developed for the purpose of investigating plants that might show activity on pathogenic microorganisms. *Rosmarinus officinalis* L., known as rosemary, is traditionally used to treat intestinal disorders, such as indigestion and flatulence, along with its antiseptic, antifungal, antioxidant and antimicrobial properties. The presence of cineol (1,8-cineol or eucalyptol) in the volatile oil was shown to be the main active with antiseptic and bactericidal activities. This study aimed to evaluate the antimicrobial activity of the hydroalcoholic extract and volatile oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), besides the development of an antiseptic formulation of liquid soap for hands sanitization. The antimicrobial activity was tested in

opposition to *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* microorganisms, through the agar diffusion method, using stainless steel cylinder, in comparison to commercially utilized antimicrobial agents. The rosemary extract presented antimicrobial activity in relation to *S. aureus* and *C. albicans* strains, whereas the volatile oil inhibited the three tested microorganisms' growth. Regarding the formulations, the soap with rosemary extract presented some activity towards *S. aureus* and *C. albicans*, and the soap with rosemary volatile oil showed activity when related to *E.*

coli and *C. albicans*. It was possible to obtain rosemary extract and rosemary volatile oil and then incorporate them into liquid soap formulations for evaluation of the antimicrobial activity. The rosemary volatile oil and the extract presented antimicrobial activity towards some of the tested microorganisms, as well as when incorporated into the soaps and when analyzed by the agar diffusion technique.

Keywords: *Rosmarinus officinalis* L.. Antimicrobial Activity. Soap.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, tem-se evidenciado a necessidade de se buscarem recursos naturais com atividade antimicrobiana em razão do uso irresponsável dos antimicrobianos por meio da exposição indevida a bactérias patogênicas. Em consequência disso, o uso abusivo dos antimicrobianos na sociedade favoreceu o surgimento da resistência microbiana e a restrição do uso de alguns antibióticos no tratamento de doenças infecciosas (CUNICO et al., 2004). O uso constante e inadequado de antissépticos e desinfetantes pode contribuir para a resistência bacteriana aos antimicrobianos principalmente em ambiente hospitalar. Entretanto, esse uso é imprescindível no controle da disseminação de microrganismos (REIS et al., 2011).

Nesse sentido, muitas pesquisas se direcionaram a investigar as propriedades antimicrobianas de extratos e óleos essenciais de plantas, a fim de se conduzir o desenvolvimento de novos medicamentos e formulações de origem natural que sejam ativos contra micro-organismos resistentes e que ajam de forma direcionada, sem causar efeitos adversos aos pacientes (LOGUERCIO et al., 2005).

Desde a Idade Antiga, o homem se utiliza de plantas medicinais para amenizar seu sofrimento físico e tratar moléstias. Hoje, a terapia medicamentosa se beneficia de vários medicamentos que foram produzidos a partir de fontes naturais, por meio do isolamento de princípios ativos dos extratos vegetais. Nessa perspectiva, muitas plantas foram estudadas cientificamente, e, clinicamente, tiveram sua ação farmacológica comprovada pelas indústrias farmacêuticas. Entretanto, ainda se faz necessária uma análise mais rigorosa dos constituintes químicos das plantas responsáveis pela atividade

farmacológica para se garantir a eficácia clínica e a segurança terapêutica (YUNES; CALIXTO, 2001).

Rosmarinus officinalis L., pertencente à família Lamiaceae, conhecida popularmente como “alecrim”, “alecrim de-jardim”, “alecrim-rosmarinho”, “flor-de-olimpio”, “rosmarinho”, é uma planta de porte subarborescente lenhoso, ramificado, de até 1,5 m de altura, aromática, flores azuladas-claras, nativa da região do Mediterrâneo e cultivada em quase todos os países (LORENZI; MATOS, 2008). As propriedades terapêuticas presente no óleo essencial de alecrim possuem atividade antisséptica, antifúngica, inseticida, antioxidante, adstringente, antimicrobiana, entre outras (WOLFFENBUTTEL, 2010).

Os principais constituintes presentes no óleo essencial são: pineno, canfeno, cineol, borneol, acetato de bornila, cânfora, diterpenos, além de possuir ácidos orgânicos, saponina, traços de alcaloides e taninos (TESKE; MARGALY; TRENTINÉ, 1997). A presença do cineol (1,8-cineol ou eucaliptol) no óleo essencial demonstrou ser o ativo majoritário com atividade antisséptica e bactericida. Estudo *in vitro* do óleo essencial de alecrim revelou atividade antimicrobiana e antifúngica frente às bactérias Gram-positiva, como *S. Aureus*, e bactérias Gram-negativa, como a *E. coli* (NEWALL; ANDERSON; PHILLIPSON, 2002).

As técnicas assépticas reduzem gradativamente a incidência de infecções, uma vez que a higienização apropriada das mãos remove a maiorias dos micro-organismos transitórios prejudiciais à saúde e ajuda a equilibrar a microbiota residente da pele (BURTON; ENGELKIRK, 2005). As mãos humanas podem albergar muitos micro-organismos da microbiota residente e da microbiota transitória. Dessa forma, a higienização das mãos com sabão é uma das técnicas mais

simples para se reduzir a ocorrência de doenças infecciosas (MAHMUD et al., 2015). Para isso, são utilizados principalmente sabonetes antibacterianos e soluções à base de álcool (ZANDIYEH; ROSHANAIEI, 2015). Entretanto, tal prática ainda é negligenciada por muitos profissionais da área de saúde, especialmente na execução do procedimento de higienização das mãos ou no uso de produtos inadequados (KLYMENKO; KAMPF, 2015).

Segundo Primo et al. (2010), medidas básicas como a higienização adequada das mãos nos ambientes hospitalares podem prevenir e controlar os riscos de desenvolvimento de doenças infecciosas entre profissionais da área de saúde, pacientes, acompanhantes e todos os usuários dos serviços de saúde. A necessidade de tal metodologia se fundamenta pela capacidade de as mãos hospedarem e transmitirem micro-organismo patógenos por meio do contato.

Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico e do óleo volátil de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), além de desenvolver uma formulação antisséptica de sabonete líquido para higienização das mãos.

MATERIAIS E MÉTODOS

• Preparação do extrato de alecrim

As folhas do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais do Centro Universitário Herminio Ometto (FHO|Uniararas) no período de março a abril de 2016. Depois de selecionadas as folhas, foi removida a sujidade, sendo todas elas pesadas e submetidas ao processo de maceração com solução hidroalcoólica 70%, à temperatura ambiente durante o período de 7 dias, seguido de filtração a vácuo. O filtrado resultante foi evaporado sob vácuo à temperatura de 40°C em evaporador rotativo até a eliminação do etanol (SIMÕES et al., 2007). O extrato de alecrim foi acondicionado em frasco âmbar sob refrigeração até o momento das análises.

• Obtenção do óleo essencial de alecrim

A extração do óleo volátil foi realizada pelo processo de destilação por arraste a vapor, conforme a Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010) e Simões et al. (2007), que consiste em submeter 50 g do material vegetal à destilação por 2-4 horas, utilizando um balão com 500 ml de água como gerador do vapor. O material vegetal foi colocado em um segundo balão pelo qual o vapor passou. O óleo volátil de alecrim foi acondicionado em frasco âmbar sobre refrigeração até o momento das análises.

• Avaliação da atividade antimicrobiana

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da FHO|UNUARARAS (CEUA, 056/2015). Para avaliação da atividade antimicrobiana foram avaliadas as seguintes amostras: óleo volátil de alecrim; extrato de alecrim; digluconato de clorexidina, como controle positivo; sabonete base, como controle negativo; sabonete acrescido do óleo volátil de alecrim; sabonete acrescido do extrato de alecrim; e sabonete acrescido de digluconato de clorexidina 2%.

Foram utilizadas cepas padrões dos micro-organismos *S. aureus* (ATCC 25923), *E. coli* (ATCC 25922) e *C. albicans* (ATCC10231).

Culturas desenvolvidas em caldo BHI por 24 horas foram diluídas convenientemente (cerca de 10^8 bactérias/ml) e semeadas na superfície de ágar Mueller-Hinton. A seguir, cilindros de aço inox foram colocados sobre as placas inoculadas e transferidos 200 µl das amostras a ser testadas. Após incubação por 48 horas à temperatura de 37°C, foram medidos os halos de inibição das amostras testadas. As análises foram realizadas em duplicatas.

• Desenvolvimento do sabonete líquido

A formulação utilizada para o preparo dos sabonetes está descrita na Tabela 1 a seguir. Foi preparada uma formulação de sabonete base e, em seguida, foi incorporado o óleo volátil de alecrim (sabonete A), o extrato de alecrim (sabonete B) e o digluconato de clorexidina (sabonete C).

Tabela 1 Formulação dos sabonetes A, B e C.

Matérias-primas	Função	Concentração (%)
Lauril éter sulfato de sódio (A, B e C)	Tensoativo aniônico	34,00
Dietanolamina de ácido graxo de coco (A, B e C)	Sobreengordurante, estabilizante de espuma	1,50
Cocoamido propil betaína (A, B e C)	Tensoativo anfótero	5,00
Hidroxietilcelulose (A, B e C)	Espessante hidrofílico	0,50
Solução de ácido cítrico a 10% (A, B e C)	Regulador de pH	qsp pH 6,0 – 6,5
Propilenoglicol (A, B e C)	Umectante	2,00
Água destilada (A, B e C)	Veículo	q.s.p 100%
Metilparabeno (A, B e C)	Conservante	0,2
Cloreto de sódio (A, B e C)	Viscosificante	0,43
Óleo volátil de alecrim (A)	Antimicrobiano e Antifúngico	1,00
Extrato de alecrim (B)	Antimicrobiano e antifúngico	10,00
Digluconato de clorexidina (C)	Antimicrobiano	4,00

As amostras foram acondicionadas em frascos de plástico com tampa, os quais foram armazenados em temperatura ambiente.

• Técnica de preparo

Em um béquer, foi aquecida até 55°C a hidroxietilcelulose e parte da água destilada. Após atingir a temperatura, foi resfriada sob agitação até 40°C (A). Paralelamente, em um cálice, foi adicionado o lauril éter sulfato de sódio, a dietanolamina de ácido graxo de coco e o cocoamido propil betaina (B). Separadamente, o metilparabeno em propilenoglicol foi solubilizado e incorporado em (B). O conteúdo do béquer (A) foi vertido no cálice (B) e homogeneizado. Finalmente foram adicionados o óleo de alecrim ou

o extrato de alecrim ou o digluconato de clorexidina, dependendo da formulação, e o volume foi completado para 100 ml com água destilada. O pH da formulação foi medido e corrigido de forma a obter pH 6 e 6,5.

As amostras foram acondicionadas em frascos de plástico com tampa, os quais foram armazenados em temperatura ambiente.

RESULTADOS

Na Tabela 2 a seguir são apresentados os resultados da avaliação da atividade antimicrobiana do óleo volátil de alecrim e do extrato de alecrim diante dos micro-organismos testados.

Tabela 2 Valores dos halos de inibição para as amostras de digluconato de clorexidina, óleo volátil de alecrim e extrato de alecrim.

Micro-organismos	Halos de inibição (mm)		
	Digluconato de clorexidina	Óleo volátil de alecrim	Extrato de alecrim
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	15±4,2	15±2	11,5±1,5
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	12,5±0,71	13,5± 0,5	--
<i>Candida albicans</i> (ATCC10231)	14,5±0,71	16±1	9,5±0.5

(--): ausência de halo de inibição.

Na Tabela 3 a seguir são apresentados os resultados da avaliação da atividade antimicrobiana das formulações de sabonetes diante dos micro-organismos testados.

Tabela 3 Valores dos halos de inibição das formulações de sabonete testadas.

Micro-organismos	Halos de inibição (mm) das amostras			
	Sabonete base	Sabonete acrescido do óleo volátil de alecrim 1%	Sabonete acrescido de do extrato de alecrim 10%	Sabonete acrescido de digluconato de clorexidina 4%
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	--	--	8 ±0,71	--
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	--	11±1	--	9±1
<i>Candida albicans</i> (ATCC10231)	--	10±0	8,5±0,71	8,5±0,71

(--): ausência de halo de inibição.

DISCUSSÃO

Pesquisas envolvendo plantas com potencial antimicrobiano tornaram-se mais relevante à medida que se restringia a utilização de antibióticos nos tratamentos das doenças infecciosas. Segundo Ribeiro et al. (2009), diante do advento da resistência microbiana aos antibióticos, atualmente tem-se a necessidade de continuação de estudos com plantas medicinais como um subsídio na terapia medicamentos das infecções. Com isso, a investigação de estudos com plantas passou a ser cada vez mais expressiva, na busca de se descobrirem novos agentes terapêuticos seguros e eficazes com potencial antimicrobiano, por meio de vários métodos que avaliam a atividade antibacteriana e antifúngicas das plantas (OSTROSKY et al., 2008).

Os resultados obtidos demonstram que o extrato de alecrim apresentou atividade antimicrobiana diante das cepas de *S. aureus* e *C. albicans*, porém não apresentou inibição diante da *E. coli*. A atividade antimicrobiana do extrato de alecrim também já foi relatada na literatura diante das cepas do *S. aureus* (ATCC 25923), com uma Concentração Inibitória Mínima (CIM) de 15,6 g / mL, diante do *Bacillus subtilis* (ATCC 6623) com CIM de 62,5 g/ mL e diante da *Candida parapsilosis* (ATCC 22019) com uma CIM de 62,5g/ ml (COSTA et al., 2015).

Lima et al. (2014) também testaram o extrato alcoólico de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e, pela técnica de microdiluição, diante das cepas *S. aureus* e *E. Coli*, comprovaram maior eficácia antimicrobiana do extrato na concentração de 40mg/ml ao inibir o crescimento de 60% das cepas analisadas contra as bactérias Gram-positivas e apenas 37,14% na mesma concentração contra as Gram-negativa.

Já o óleo volátil de alecrim demonstrou inibição de crescimento diante dos três micro-organismos testados pela técnica de difusão em ágar. Os valores dos halos de inibição foram muito similares aos obtidos com o controle positivo testado (digluconato de clorexidina). Vale ressaltar que diante da *C. albicans* o óleo volátil de alecrim apresentou um halo de inibição de 16 mm, enquanto o digluconato de clorexidina apresentou um halo de 14.5 mm. Dessa forma, é possível demonstrar o potencial antimicrobiano do óleo volátil de alecrim diante dos micro-organismos testados pela técnica

de difusão em ágar utilizando cilindros de aço inox. Várias pesquisas já foram realizadas demonstrando o potencial antimicrobiano do óleo volátil de alecrim. De acordo com Porte e Godoy (2001), a presença de compostos fenólicos no óleo volátil de alecrim está relacionada à sua atividade antimicrobiana, nas quais exerce efeito na bicamada lipídica da membrana celular alterando a permeabilidade e os constituintes essenciais para a sobrevivência das bactérias, entre outros efeitos. Dados da literatura demonstram que o óleo volátil de alecrim apresentou ação antifúngica e antibacteriana diante dos micro-organismos *S. aureus*, *Staphylococcus albus* e *Vibrio cholerae*, *E. coli* e corinebactérias (NEWALL; ANDERSON; PHILLIPSON, 2002).

Outro estudo evidenciado por Silva (2011), por meio do qual buscou constatar a atividade antimicrobiana de plantas medicinais com base em cinco artigos publicados, foi demonstrado nos resultados obtidos que o óleo de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) apresentou atividade diante das cepas *C. albicans* (ATCC 10231), *E. coli* (ATCC 8739), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) e *S. aureus* (ATCC 6538), ressaltando a viabilidade da utilização do óleo de alecrim em formulações farmacêuticas como conservantes.

Para análise das formulações dos sabonetes líquidos, foi testado o sabonete base sem a incorporação dos ativos, a fim de se verificar se a formulação possui atividade microbiana sobre os micro-organismos testados, e com as formulações contendo óleo volátil de alecrim (A), extrato de alecrim (B) e digluconato de clorexidina (C).

Os resultados obtidos (Tabela 3) demonstram que o sabonete acrescido do óleo volátil de alecrim apresentou atividade antimicrobiana diante da *E. coli*, com média dos halos de inibição de 11 mm; diante da *C. albicans*, apresentou média de 10 mm do diâmetro dos halos de inibição, porém não apresentou inibição de crescimento diante do *S. aureus*.

O sabonete acrescido do extrato de alecrim apresentou atividade antimicrobiana diante dos micro-organismos e *S. aureus* e *C. albicans*, com médias de halos de inibição de 8 mm e 8,5 mm, respectivamente. Diante da *E. coli*, o sabonete contendo o extrato de alecrim não apresentou halo de inibição de crescimento, assim como o extrato de alecrim, que, quando testado, também não apresentou.

O sabonete acrescido de digluconato de clorexidina a 4% não demonstrou ação em todos os micro-organismo analisados; porém, quando o digluconato de clorexidina foi testado, apresentou atividade antimicrobiana diante dos três micro-organismos testados. Tal fato pode estar relacionado com a interação da substância em teste com um dos componentes da fórmula. Dados da literatura mostram que o lauril sulfato de sódio, detergente bastante utilizado em formulações de sabonetes, é incompatível com a clorexidina, o gera a redução do seu efeito antimicrobiano (ANDRADE, 2014). Este fato demonstra que as formulações de sabonetes antimicrobianos que contêm como ativo a clorexidina podem não apresentar a atividade antimicrobiana esperada, o que vai ao encontro do objetivo deste trabalho, que é avaliar a atividade antimicrobiana de diferentes substâncias que possam ser utilizadas como ativos antimicrobianos em sabonetes.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados demonstrados no presente estudo, foi possível avaliar a atividade antimicrobiana do extrato e do óleo volátil de alecrim diante das cepas analisadas, assim como quando estes são incorporados em uma formulação de sabonete líquido para higienização das mãos. Observou-se que o extrato de alecrim apresentou atividade antimicrobiana apenas diante das cepas de *S. aureus* e *C. Albicans*; já óleo volátil de alecrim inibiu o crescimento dos três micro-organismos testados. Para as formulações, o sabonete acrescido do extrato de alecrim apresentou atividade antimicrobiana diante dos micro-organismos e *S. aureus* e *C. albicans*, e o sabonete acrescido do óleo volátil de alecrim teve atividade diante da *E. coli* e da *C. albicans*.

Entretanto, faz-se necessária a continuação dos estudos a fim de se avaliar o teor dos ativos presentes, as possíveis incompatibilidades com os componentes da fórmula, a vida de prateleira, entre outros aspectos para se garantir maior eficácia e segurança do produto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, E. D. **Terapêutica medicamentosa em odontologia**. 3. ed. São Paulo: Artes Médicas, 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. 5. ed. Brasília: Anvisa, 2010.

BURTON, G. R. W.; ENGELKIRK, P. G. **Microbiologia para as ciências da saúde**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

COSTA, G. M. et al. Effect of plant extracts on planktonic growth and biofilm of *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 4, n. 6, p. 908-917, 2015.

CUNICO, M. M. et al. Atividade antimicrobiana do extrato bruto etanólico de raízes e partes aéreas de *Ottonia martiana* Miq.(Piperaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n. 2, p. 97-103, 2004.

KLYMENKO, I.; KAMPF, G. Systemic mistakes in hand hygiene practice in Ukraine: detection, consequences and ways of elimination. **GMS Hygiene and Infection Control**, v. 10, 2015.

LIMA, A. P. L. et al. Efeito Antimicrobiano do Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) sobre Cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de Pacientes de um Hospital Escola do Sul de Minas. **Revista Ciências em Saúde**, v. 4, n. 2, p. 55-63, 2014.

LOGUERCIO, A. P. et al. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 371-376, 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

MAHMUD, M. A. et al. Efficacy of Handwashing with Soap and Nail Clipping on Intestinal Parasitic Infections in School-Aged Children: A Factorial Cluster Randomized Controlled Trial. **Plos Medicine**, v. 12, n. 6, p. e1001837, 2015.

NEWALL, C. A.; ANDERSON, L. A.; PHILLIPSON, J. D. **Plantas medicinais guia para profissional de saúde**. São Paulo: Premier, 2002.

OSTROSKY, E. A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-7, 2008.

PORTE, A.; GODOY, R. L. de O. Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L): propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimento**, v. 19, n. 2, p. 193-210, 2001.

PRIMO, M. G. B. et al. Adesão à prática de higienização das mãos por profissionais de saúde de um Hospital Universitário. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 12, n. 2, p. 266-71, 2010.

REIS, L. M. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de antissépticos e desinfetantes utilizados em um serviço público de saúde. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 64, n. 5, p. 870-875, 2011.

RIBEIRO, C. M. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas utilizadas na medicina popular da Amazônia. **Infarma Ciências Farmacêuticas**, v. 21, n. 1/2, 2009.

SILVA, K. de C. F. de A. Avaliação do uso de plantas medicinais com atividade antimicrobiana

como conservantes em formulações farmacêuticas. 2011. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização) – Instituto de Tecnologia em Fármacos/Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2011.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Ufrgs, 2007.

RODRIGUES, J. et al. Antimicrobial activity of *Miconia* species (Melastomataceae). **Journal of medicinal food**, v. 11, n. 1, p. 120-126, 2008.

TESKE, M.; MARGALY, A.; TRENTINÉ, M. **Herbarium compêndio de fitoterapia**. 3. ed. Curitiba: Herbarium, 1997.

WOLFFENBUTTEL, A. N. **Base da química dos óleos essenciais e aromaterapia**: abordagem técnica e científica. São Paulo: Roca, 2010.

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais** – sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó: Argos, 2001.

ZANDIYEH, M.; ROSHANAIE, G. Effectiveness of three surgical alcohol-based hand rubs on skin flora. **Iranian Journal of Nursing and Midwifery Research**, v. 20, n. 2, p. 221-225, 2015.