

Universidade Federal de Juiz de Fora
Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas
Area de concentração: Produtos Naturais Bioativos

ÉRIKA YOKO SUZUKI

**ÓLEO ESSENCIAL DE *Origanum vulgare* Linnaeus: UMA ALTERNATIVA
CONTRA AS PRINCIPAIS BACTÉRIAS CAUSADORAS DE MAU ODOR**

JUIZ DE FORA

2013

ÉRIKA YOKO SUZUKI

**ÓLEO ESSENCIAL DE *Origanum vulgare* Linnaeus: UMA ALTERNATIVA
CONTRA AS PRINCIPAIS BACTÉRIAS CAUSADORAS DE MAU ODOR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de concentração: Produtos Naturais Bioativos, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a Dr^a Nádia Rezende Barbosa Raposo

JUIZ DE FORA

2013

ÉRIKA YOKO SUZUKI

**ÓLEO ESSENCIAL DE *Origanum vulgare* Linnaeus: UMA ALTERNATIVA
CONTRA AS PRINCIPAIS BACTÉRIAS CAUSADORAS DE MAU ODOR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de concentração em Produtos Naturais Bioativos, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em:

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Nádia Rezende Barbosa Raposo – Orientadora
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Frederico Pittella Silva
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Adilson David da Silva
Universidade Federal de Juiz de Fora

Aos meus pais
Shinji Suzuki e Yoko Sekiya Suzuki,
meus guias na trajetória da vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me concedido momentos únicos de felicidade e por ter me dado forças quando eu mais precisava. Superação é o resultado da minha fé a uma força maior.

Agradeço aos meus pais Shinji e Yoko por tudo que sou e que conquistei. Seus exemplos de vida sempre foram inspirações para eu vencer qualquer obstáculo. Obrigada pela rigorosa educação, pelos sacrifícios, pelo imenso amor, carinho e apoio em todos os momentos de minha vida. Minha vida é iluminada, pois tenho vocês ao meu lado.

Agradeço ao meu irmão Fábio pela sua generosidade e bondade e à minha irmã Mônica pelo seu carinho e companhia. Levarei sempre comigo o exemplo de perseverança e dedicação dos irmãos mais velhos. Obrigada por sempre estarem dispostos a me ajudar.

Aos meus queridos avós Yukio e Tomiya, os quais eu convivi diariamente a maior parte da minha vida, agradeço pelo imenso carinho, pelo apoio na minha educação e pelo suporte aos meus pais na criação dos netos. Serei eternamente grata.

À prof^a Dr^a Nádia por ter me introduzido na pesquisa científica e por ter me acolhido durante tantos anos. Sua contribuição foi imprescindível para as minhas conquistas desde quando entrei no NIQUA, que atualmente faz seis anos de pesquisa. Agradeço pelos ensinamentos que contribuíram para o meu amadurecimento pessoal e profissional.

Aos meus amigos de laboratório: Annelisa, Danny, Edilene e Pedro por terem me ajudado de alguma forma no desenvolvimento do projeto, além do sempre agradável convívio. Sempre levarei comigo os momentos divertidos que passamos juntos, nossas conversas, o apoio e sem dúvida a amizade.

Às amigas Ana Paula, Fatinha, Natalia e Aline pelo carinho de sempre, mesmo depois de terem seguindo outros rumos.

Aos demais amigos do NIQUA pelo companheirismo, pelas conversas sempre produtivas, pelos momentos felizes que passamos juntos e pela ajuda no decorrer do mestrado. Durante esses anos de laboratório, conheci pessoas incríveis que muito contribuíram para o meu desenvolvimento de trabalho em equipe e com as quais criei laços que nem o tempo foi capaz de desmanchar.

À Amanda, do Centro de Microscopia Eletrônica de Varredura do Museu Nacional – UFRJ, pela boa vontade e preocupação em me atender, mesmo fora do horário de expediente.

À Noêmia, do Laboratório de Ultraestrutura Celular Hertha Meyer – UFRJ, por ser tão humana e pela receptividade quando me atende durante as análises de microscopia.

Agradeço aos membros da banca de qualificação pelas sugestões produtivas que enriqueceram o meu trabalho e ao Anderson da empresa ORTOFARMA pelo auxílio com a formulação.

Às minhas eternas amigas Andresa, Anna Carolina, Fernanda, Grasielle, Karina, Mariana, Patrícia e Priscila por estarem sempre ao meu lado, me dando forças e me fazendo sorrir mesmo diante as dificuldades.

Agradeço também aos meus amigos do mestrado, em especial Antônio, Carolina e Isabela, por compartilharem os momentos prazerosos e os momentos difíceis.

À prof^a Dr^a Fabíola, pelos ensinamentos dentro de sala de aula, pela sua paciência, contribuição e boa vontade durante nossas conversas que certamente foram e serão muito produtivas para minha vida.

À prof^a Dr^a Magda, pela sempre boa vontade em ajudar em toda minha trajetória acadêmica. Desde a iniciação científica, sempre me auxiliou quando precisava, confiando o uso do laboratório, ensinando e discutindo resultados.

Aos funcionários e demais professores da faculdade, especialmente à prof^a Dr^a Beth, pelo apoio e pela sempre boa vontade em ajudar.

À CAPES pelo auxílio financeiro.

“O estudo em geral, a busca da verdade e da beleza são domínios em que nos é consentido ficar crianças toda a vida.”

Albert Einstein

“A natureza é o único livro que oferece um conteúdo valioso em todas as suas folhas.”

Johann Goethe

“Determinação, coragem e autoconfiança são fatores decisivos para o sucesso. Se estamos possuídos por uma inabalável determinação conseguiremos superá-los. Independentemente das circunstâncias, devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho.”

Dalai Lama

RESUMO

O uso de produtos de higiene pessoal tornou-se preocupação diária na vida das pessoas. No entanto, devido aos comprovados efeitos toxicológicos de alguns compostos sintéticos, os consumidores estão cada vez mais interessados na utilização de ativos naturais. O objetivo desse estudo foi investigar o potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Origanum vulgare* Linnaeus frente às principais bactérias responsáveis pelo mau odor axilar (*Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Micrococcus luteus* ATCC 7468 e *Corynebacterium xerosis* IAL 105) e desenvolver um desodorante antitranspirante que contenha o óleo essencial de *O. vulgare* como agente antimicrobiano. Foi avaliado o perfil químico do óleo essencial por cromatografia gasosa de alta resolução (CG-AR) e o componente majoritário identificado foi o γ -terpineno (30,5%). O óleo essencial apresentou atividade bactericida frente ao *P. vulgaris* ATCC 13315, *M. luteus* ATCC 7468 e *C. xerosis* IAL 105 com valores de concentração inibitória mínima (CIM)=1400; 2800 e 1400 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Apresentou também atividade bacteriostática com valores de CIM=2800 $\mu\text{g/mL}$ para *S. epidermidis* ATCC 12228 e de CIM=700 $\mu\text{g/mL}$ para as demais. O desodorante antitranspirante contendo 2% de óleo de *O. vulgare* demonstrou atividade bactericida frente a todas as bactérias testadas. As eletromicrografias das linhagens bacterianas expostas aos tratamentos propostos demonstraram alterações na estrutura das bactérias. O desenvolvimento do desodorante antitranspirante contendo o óleo essencial de *O. vulgare* como ativo natural antimicrobiano, confere uma alternativa ao uso do triclosan.

Palavras-chave: *Origanum vulgare*. Produtos com ação antimicrobiana. Plantas medicinais. Bactérias. Desodorantes.

ABSTRACT

The use of personal care products became a daily concern in the life of ordinary people. However, due to the toxicological effects of some synthetic compounds, consumers are increasingly interested in the use of natural actives. Thus, this study aimed to investigate the antimicrobial potential of essential oil of *Origanum vulgare* L. against the main bacterial strains responsible for bad perspiration odor (*Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Micrococcus luteus* ATCC 7468 and *Corynebacterium xerosis* IAL 105) and to develop an antiperspirant deodorant containing only the essential oil of *O. vulgare* as an antimicrobial agent. The chemical profile of the essential oil was evaluated by high-resolution gas chromatography and the major component was identified γ -terpinene. Bactericidal activity was observed against *P. vulgaris* ATCC 13315, *M. luteus* ATCC 7468 and *C. xerosis* IAL 105, with minimum inhibitory concentration (MIC) values of 1400, 2800 and 1400 $\mu\text{g/mL}$, respectively and bacteriostatic activity against all of them (MIC=700 $\mu\text{g/mL}$) and *S. epidermidis* ATCC 12228 (MIC=2800 $\mu\text{g/mL}$). The antiperspirant deodorant containing 2% essential oil presented bactericidal activity against all tested bacteria. Electron microscopy images confirmed the physical damage and morphological alteration in the structure of bacteria exposed to the treatments. The development of antiperspirant deodorant formulation containing the essential oil of *O. vulgare* can be a natural antimicrobial alternative to the use of triclosan.

Key words: *Origanum vulgare*. Products with Antimicrobial Action. Plants, Medicinal. Bacteria. Deodorants.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Esquema da histologia da pele.....	24
Figura 2	Glândula sudorípara demonstrada como uma estrutura tubular.....	26
Figura 3	<i>Staphylococcus epidermidis</i> visualizados após a coloração de Gram.....	29
Figura 4	<i>Proteus vulgaris</i> visualizados após a coloração de Gram.....	30
Figura 5	<i>Micrococcus luteus</i> visualizados após a coloração de Gram.....	31
Figura 6	<i>Corynebacterium xerosis</i> visualizados após a coloração de Gram.....	32
Gráfico 1	Aumento do número de consumidores de produtos naturais em relação aos de beleza em geral.....	35
Figura 7	Razões que colocam o Brasil com grande potencial para o mercado verde.....	36
Figura 8	Principais constituintes químicos encontrados no óleo essencial de orégano.....	48
Figura 9	Materiais e equipamentos necessários para a análise das estruturas morfológicas das linhagens bacterianas por microscopia eletrônica de varredura.....	54
Figura 10	Desodorante antitranspirante desenvolvido.....	55
Figura 11	Perfil cromatográfico do óleo essencial de <i>O. vulgare</i>	58
Figura 12	Eletromicrografias de <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 expostos aos tratamentos experimentais.....	62
Figura 13	Eletromicrografias de <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315 expostos aos tratamentos experimentais.....	63
Figura 14	Eletromicrografias de <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 7468 expostos aos tratamentos experimentais.....	64
Figura 15	Eletromicrografias de <i>Corynebacterium xerosis</i> IAL 105 expostos aos tratamentos experimentais.....	65
Figura 16	Eletromicrografias de <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 expostos ao desodorante antitranspirante.....	67

Figura 17	Eletromicrografias de <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 expostos ao desodorante antitranspirante.....	68
Figura 18	Eletromicrografias de <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 7468 expostos ao desodorante antitranspirante.....	69
Figura 19	Eletromicrografias de <i>Corynebacterium xerosis</i> IAL 105 expostos ao desodorante antitranspirante.....	70

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Ingredientes comumente utilizados em desodorantes.....	39
Quadro 2	Lista das presumíveis fragrâncias alergênicas, de acordo com a <i>International Nomenclature of Cosmetic Ingredient</i>	41
Quadro 3	Composição do desodorante antitranspirante contendo o óleo de <i>O. vulgare</i>	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Panorama mundial do setor de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos.....	34
Tabela 2	Composição química do óleo essencial de <i>O. vulgare</i> obtida por cromatografia gasosa de alta resolução	59
Tabela 3	Atividade antimicrobiana do óleo essencial de <i>O. vulgare</i> , triclosan, e fármacos de referência.....	60
Tabela 4	Concentração inibitória mínima do óleo essencial de <i>O. vulgare</i>	61
Tabela 5	Ação antimicrobiana do desodorante antitranspirante.....	66

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
CG-AR	Cromatografia gasosa de alta resolução
CIM	Concentração inibitória mínima
cm	Centímetros
DMSO	Dimetilsulfóxido
FabI	Enzima enoil – proteína carreadora de acila redutase
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FID	<i>Flame Ionization Detector</i>
HPPC	Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos
IAL	Instituto Adolfo Lutz
INCI	<i>International Nomenclature of Cosmetic Ingredient</i>
Kv	Kilovolts
LTDA	Limitada
m	metros
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MIC	Minimum inhibitory concentration
mg	Miligramas
min	Minutos
mL	Mililitros
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Reduzida
NCEs	Novas entidades químicas
nm	Nanômetros
NPD	<i>National Purchase Diary</i>
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
PA	pró-análise
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	Partes por milhão
p/v	Peso por volume
q.s.p	Quantidade suficiente para
TSA	<i>Tryptone Soy Agar</i>

TSB	<i>Tryptone Soya Broth</i>
UFC	Unidades formadoras de colônias
v/v	Volume por volume
µg	Microgramas
µL	Microlitros

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO DA LITERATURA	20
2.1	TRANSPIRAÇÃO	20
2.1.1	Glândulas écrinas	21
2.1.2	Glândulas apócrinas	22
2.1.3	Glândulas apoécrinas	23
2.1.4	Glândulas sebáceas	23
2.1.5	Mecanismo da transpiração	24
2.2	PRINCIPAIS BACTÉRIAS RELACIONADAS AO MAU ODOR AXILAR	27
2.2.1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	28
2.2.2	<i>Proteus vulgaris</i>	29
2.2.3	<i>Micrococcus luteus</i>	30
2.2.4	<i>Corynebacterium xerosis</i>	31
2.3	MERCADO DE PRODUTOS DE HIGIENE PESSOAL, PERFUMARIA E COSMÉTICOS	33
2.4	MERCADO VERDE	34
2.5	DESODORANTES E ANTITRANSPIRANTES	37
2.5.1	Problemas relacionados aos desodorantes	39
2.6	PLANTAS MEDICINAIS: FONTE DE ANTIMICROBIANOS	43
2.6.1	Óleos essenciais	44
2.6.2	<i>Origanum vulgare</i> Linnaeus	47
3	OBJETIVOS	49
3.1	GERAL	49
3.2	ESPECÍFICOS	49
4	MATERIAL E MÉTODOS	50
4.1	ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Origanum vulgare</i> L.	50
4.2	PERFIL CROMATOGRÁFICO DO ÓLEO ESSENCIAL	50
4.3	MICRO-ORGANISMOS DE INTERESSE	51
4.4	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL.....	51
4.4.1	Triagem e concentração inibitória mínima	51
4.4.2	Microscopia eletrônica de varredura	53

4.5	DESENVOLVIMENTO DO DESODORANTE ANTITRANSPIRANTE CONTENDO OLEO ESSENCIAL DE <i>O. vulgare</i>	54
4.6	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO DESODORANTE ANTITRANSPIRANTE	55
4.6.1	Triagem	55
4.6.2	Microscopia eletrônica de varredura	56
5	RESULTADOS	57
5.1	PERFIL CROMATOGRÁFICO DO ÓLEO ESSENCIAL.....	57
5.2	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL.....	60
5.2.1	Triagem e concentração inibitória mínima	60
5.2.2	Microscopia eletrônica de varredura	61
5.3	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO DESODORANTE ANTITRANSPIRANTE.....	66
5.3.1	Triagem	66
5.3.2	Microscopia eletrônica de varredura	66
6	DISCUSSÃO	71
7	CONCLUSÃO	83
	REFERÊNCIAS	84

1 INTRODUÇÃO

Até a década de 70, os principais objetos de discriminação no mercado de trabalho eram o sexo e a raça. Com o decorrer dos anos, esse tema foi ampliado, passando a incorporar também uma nova forma de discriminação relativa à aparência física (DWECK, 1999). A importância desse atributo no mercado de trabalho já foi comprovada, mostrando ser um dos responsáveis pelo diferencial de renda entre os trabalhadores (HAMERMESH; BRIDDLE, 1994). Assim sendo, cresceu a demanda de serviços ligados à beleza e à melhoria da aparência física. Essa nova forma de discriminação e a maior inserção da mulher no mercado de trabalho, nos últimos anos, provocaram um forte impacto na demanda de bens e serviços de higiene pessoal (DWECK, 1999).

Harper (2000) demonstrou que as pessoas de aparência simples ganhavam menos que as pessoas de boa aparência e essa diferença correspondia a 15% para os homens e 11% para as mulheres. O mercado da beleza é um setor em expansão, movido por mulheres e homens que estão cada vez mais preocupados com seu bem estar, forma física e aparência (CAMPOS, 2012).

O asseio pessoal também afeta diretamente na qualidade de vida das pessoas. Cardoso e colaboradores (2009) demonstraram que 92% dos pacientes que apresentavam hiperidrose, uma condição caracterizada pela excessiva produção de suor, obtiveram melhora na qualidade de vida quando esse problema foi solucionado.

As atividades bacterianas sobre as secreções e células mortas da pele normalmente resultam em odores desagradáveis. O suor é geralmente inodoro, no entanto, como as bactérias se multiplicam sobre a pele e consomem estas secreções, os subprodutos resultantes podem conter um odor forte e indesejável. Dos diferentes odores que emanam do corpo humano, os axilares são considerados os mais ofensivos (JAMES et al., 2013; PANDEY; KIM, 2011).

Pode-se dizer que os hábitos de higiene têm aspectos culturais e se faz presente nas preocupações diárias das pessoas. O Brasil, sendo um país tropical, se destaca como o maior consumidor de desodorantes no mundo (SEBRAE, 2012). Adicionalmente, 94% dos consumidores brasileiros buscam ingredientes naturais em produtos cosméticos e de higiene pessoal, muitas vezes devido aos comprovados

efeitos toxicológicos de alguns compostos sintéticos presentes nas formulações (MARIENHAGEN; BOTT, 2012; UNION FOR ETHICAL BIOTRADE, 2012).

A indústria da beleza é uma das que mais têm se beneficiado com o uso de produtos naturais. No entanto, esse benefício depende de uma regulamentação sanitária muito rigorosa coordenada por especialistas de diversas áreas e que não dispensa estudos paralelos e de controle. Dessa forma, o respaldo científico é essencial para o desenvolvimento de novos produtos (CHAMMA, 2007).

A prospecção tecnológica é um meio sistemático de mapear desenvolvimentos científicos e tecnológicos futuros, que influenciam de forma significativa, uma indústria, a economia ou a sociedade como um todo (SILVA FILHO; RODRIGUES, 2012). No entanto, a escassa inovação tecnológica em pesquisa e exploração de produtos naturais é uma das características marcantes de países em desenvolvimento (YUNES; PEDROSA; CECHINEL FILHO, 2001).

No Brasil, as inovações têm sido de baixa ou média tecnologia, enquanto as grandes empresas sediadas em países industrializados, como Alemanha, França, Estados Unidos e Japão, vêm aplicando competências científicas e tecnológicas no desenvolvimento de produtos derivados de plantas medicinais, muitas vezes oriundas dos países em desenvolvimento e com emprego tradicional (YUNES; PEDROSA; CECHINEL FILHO, 2001). Conseqüentemente, esses países se consolidam como líderes neste crescente e promissor mercado de produtos naturais. Cabe ressaltar que, na maioria das vezes, não há uma partilha de benefícios com o país de origem da matéria-prima ou com as comunidades tradicionais que lhes indicaram as aplicações das plantas convertidas em um produto final (FUNARI; FERRO, 2005). Dentre as diversas espécies vegetais existentes, o *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae), conhecido como orégano, é uma planta encontrada mundialmente sendo de fácil acesso e seu óleo essencial apresenta atividade antimicrobiana, além de ser utilizado em perfumaria na obtenção de fragrâncias picantes (SOUZA et al., 2005).

Dentro deste cenário, o objetivo do presente trabalho foi investigar o potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Origanum vulgare* frente às principais linhagens bacterianas responsáveis pelo mau odor axilar e desenvolver um desodorante antitranspirante como o óleo de *O. vulgare* como ativo antimicrobiano.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 TRANSPIRAÇÃO

O olfato humano é a forma mais antiga de nossos sentidos distais, fornecendo informações de diferentes produtos químicos provenientes de fontes distantes em tempo real. Os seres humanos exalam odores diferenciados em função de sua genética, dieta, estresse e estado imunológico. Numerosos compostos voláteis podem ser liberados a partir de diversas áreas do corpo que estão propensos a produção de odor (couro cabeludo, axilas, pés, virilha e cavidade oral). No entanto, o odor do corpo humano pode ser subdividido em três categorias: odor da pele (por exemplo: transpiração), odor liberado da cavidade oral (por exemplo: ar exalado) e odor liberado da excreção humana (por exemplo: urina) (PANDEY; KIM, 2011).

O suor é uma função fisiológica importante para o controle e a manutenção da temperatura corporal em aproximadamente 37°C, além de manter a hidratação e a plastificação da camada córnea. Caracteriza-se por ser uma solução contendo cloreto de sódio, água, uréia e pequenas quantidades de íons potássio, outros eletrólitos e ácido láctico (BENOHANIAN, 2001).

O controle da temperatura corporal ocorre tanto pela perda de água transepidermal como pela sudorese, que é uma secreção intensa, resultante do estímulo das glândulas écrinas, apócrinas e apoécrinas, presentes em todo organismo. Essas glândulas são controladas diretamente pelo sistema nervoso central, por meio do hipotálamo que responde a sinais referentes à temperatura do organismo e do ambiente, sendo também influenciado por hormônios, atividade física, substâncias pirogênicas endógenas e emoções. A habilidade de transpirar permitiu a adaptação do ser humano a diversos climas (BENOHANIAN, 2001; BOONME; SONGKRO, 2010).

A axila é uma região fisiologicamente única, quando comparada a outras partes do corpo, pois possui os três tipos de glândulas: écrinas, apócrinas e sebáceas (HARRIS, 2009). Ao serem secretados, tanto o suor écrino como o apócrino, são estéreis e inodoros. Os diferentes odores do corpo formam-se depois,

na superfície cutânea, pela ação das bactérias sobre o suor apócrino, rico em substâncias orgânicas ideais para o crescimento bacteriano (HAUSNER, 1993).

A superfície do corpo contém de 2 a 4 milhões de glândulas sudoríparas distribuídas na pele. Podem ser divididas em dois tipos: as écrinas e as apócrinas (AZEVEDO, 2008).

2.1.1 Glândulas écrinas

As glândulas écrinas são responsáveis pela sudorese, são menores e mais numerosas que os demais tipos de glândulas (HAUSNER, 1993). Seu número varia de 1,4 a 4 milhões e depende de cada indivíduo e da parte anatômica em que se encontra. Podem ser encontradas por toda a superfície corporal, concentrando-se mais nas palmas das mãos, solas dos pés, pescoço e tronco. Nas axilas podem ser encontradas aproximadamente 25000 glândulas écrinas (BENOHANIAN, 2001).

O suor écrino consiste em uma solução eletrolítica diluída que contém principalmente cloreto de sódio, potássio, amônia e bicarbonato, além de substâncias orgânicas, como lactato e uréia. Embora seja mais abundante que o suor apócrino, trata-se de uma solução muito diluída para originar o odor axilar, conferindo também à pele um pH ácido (4,7 para os homens e 6,0 para as mulheres) que se opõe à proliferação bacteriana (BENOHANIAN, 2001; HAUSNER, 1993).

No entanto, segundo Draelos (1995), apesar de o suor écrino não promover odor axilar, ele pode agir indiretamente dispersando o suor apócrino ao longo da superfície cutânea e fornecer umidade necessária para o crescimento bacteriano.

A maioria das glândulas écrinas responde a estímulo termal. No entanto, as que estão presentes nas palmas das mãos, na região plantar dos pés e nas axilas também respondem a estímulos emocionais (SMALLEGANGE, VERHULST; TAKKEN, 2011).

2.1.2 Glândulas apócrinas

As glândulas apócrinas são as consideradas responsáveis pela produção de odor. Elas têm tamanho muito maior que as écrinas, encontram-se localizadas principalmente nas axilas, podendo aparecer na região abdominal, no couro cabeludo, na aréola mamária e na região pubiana. São relacionadas ao desenvolvimento sexual. Por aparecerem em menor quantidade, sabe-se que estas respondem ao estresse emocional e contribuem pouco na termorregulação sistêmica. O controle de seu funcionamento não é bem definido, mas sabe-se que contém inervações do sistema simpático adrenérgico e sua secreção é estimulada por excitação ou medo. O suor apócrino contém, além de água e cloreto de sódio, porcentagens mais elevadas de proteínas, lipoproteínas e lípidos provenientes da desintegração do epitélio, que servem de substrato ao crescimento bacteriano (BENOHANIAN, 2001; FREDRICH et al., 2013; HARRIS, 2009; HAUSNER, 1993; KONG, 2011).

O processo de conversão dos precursores de odor (triglicérides e esteróis) em moléculas odoríferas provocadas pelas bactérias é chamado de osmidrose axilar. Alguns exemplos das substâncias odoríferas produzidas são androstenona que lembra o odor de urina, alfa-androstenol que provoca odor almiscarado e ácido isovalérico que provoca odor ácido, adocicado (HARRIS, 2009).

O pelo axilar também colabora para o odor agindo como um local de acúmulo de secreção apócrina, gerando o aumento da superfície de contato que contribui para a proliferação bacteriana (DRAELOS, 1995).

Enquanto nos animais, as substâncias liberadas (triglicérides e esteróis) por essas glândulas exercem o papel de feromônios e tem como objetivo atrair o sexo oposto, nos humanos pode ocorrer o contrário, pelo odor muitas vezes considerado desagradável (BENOHANIAN, 2001; HAUSNER, 1993).

2.1.3 Glândulas apoécrinas

Estas glândulas possuem características das écrinas e das apócrinas (BENOHANIAN, 2001).

Segundo Harris (2009), elas são consideradas glândulas écrinas que recebem inervação adrenérgica, respondendo a impulsos de origem emocional e térmica. Localizam nas palmas das mãos, solas dos pés e testa.

2.1.4 Glândulas sebáceas

A glândula sebácea está localizada em toda parte onde se localizam os pelos, apresentando maior quantidade no rosto, no couro cabeludo, na linha mediana do dorso e no períneo. Seu tamanho é variável e o esvaziamento das suas secreções é feito para os canais dos pelos ou para os folículos a que está ligada. É praticamente inativa antes da puberdade, mas aumenta de tamanho e se torna funcionalmente ativa durante e após essa fase (EISEN; MICHAEL, 2009; PRISTA; BAHIA; VILAR, 1992; VIVIER, 2004).

As glândulas sebáceas são suscetíveis à regulação pelos hormônios sexuais e sofrem mudanças de acordo com as alterações hormonais que ocorrem durante a vida. Seu tamanho pode aumentar com a idade, embora seu número permaneça aproximadamente o mesmo (TAGLIOLATTO; ALCHORNE; ENOKIHARA, 2011).

Cada pessoa tem um odor único devido também às secreções das glândulas sebáceas (sebo), ao efeito combinado de alimentos recém-ingeridos, ao estado físico e psicológico. Portanto, duas pessoas podem exalar odor diferente mesmo utilizando o mesmo perfume (DRAELOS, 1995).

A produção do sebo é dependente dos hormônios androgênicos, sendo que a produção média nos homens é cerca de 50% superior que as mulheres. Nas mulheres, as glândulas sebáceas respondem aos ciclos hormonais, havendo maior produção durante a ovulação (HARRIS, 2009).

O sebo é uma mistura lipídica complexa que inclui triglicerídeos, ésteres de ácidos graxos, ceras esterificadas, squaleno e ésteres de colesterol. Sua função

nos seres humanos, provavelmente inclui proteção, impermeabilização da pele, controle da perda de água pela epiderme, lubrificação do pelo tornando-o menos quebradiço e contribui com a termorregulação. Além disso, possui função inibidora do crescimento de fungos e bactérias, sendo fonte de antioxidantes como a vitamina E (HARRIS, 2009; NIEMANN; HORSLEY, 2012; VIVIER, 2004).

A localização das glândulas sudoríparas e sebáceas pode ser observada na Figura 1.

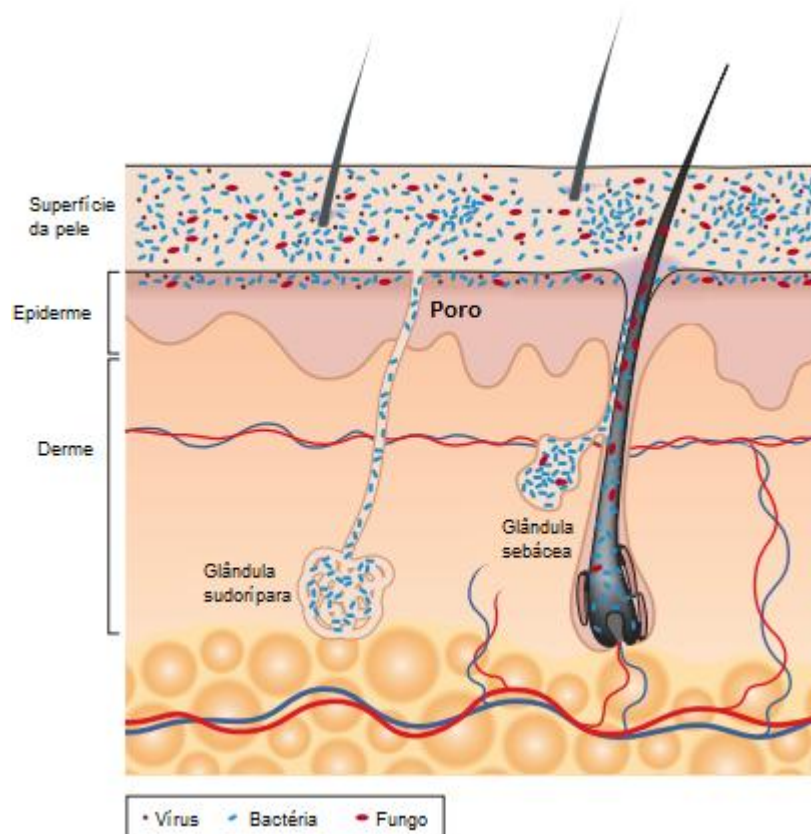


Figura 1 – Esquema da histologia da pele.

Fonte: Adaptado de Grice e Segre, 2011.

2.1.5 Mecanismo da transpiração

A pele é o maior órgão do corpo e é formada por três principais camadas: a hipoderme, derme e epiderme. A hipoderme é a camada mais profunda, seguida da derme que é onde se encontra a maioria dos tecidos conectivos da pele, ductos de glândulas sudoríparas, sebáceas e folículos pilosos e por último, a camada mais superficial, a epiderme. Este órgão é responsável por várias funções imprescindíveis para o organismo, como a termorregulação (FIORENTINO, 2009; FONTES, 2013).

A termorregulação é responsável por manter a temperatura corporal interna por meio do equilíbrio entre as variações de temperatura corpórea e a do meio ambiente. A principal via de resfriamento do organismo é a sudorese, em que ocorre a evaporação do suor (PERRONE; MEYER, 2011).

No hipotálamo situa-se o sistema de controle central, que regula a temperatura do corpo ao integrar os impulsos térmicos provenientes de quase todos os tecidos do organismo. No hipotálamo anterior é feita a integração das informações aferentes térmicas, enquanto no hipotálamo posterior iniciam-se as respostas efetoras. Existem neurônios sensíveis à temperatura na área pré-óptica do hipotálamo que podem ser classificados em neurônios sensíveis ao calor e neurônios sensíveis ao frio. Existe uma faixa interlimiar de temperatura, definida geralmente entre 36,7° a 37,1°C, na qual não há resposta efetora. Quando o impulso integrado excede ou fica abaixo da faixa limiar de temperatura, ocorrem respostas termorreguladoras autonômicas, que mantêm a temperatura do corpo em valor adequado (BRAZ, 2005).

Assim, com o excesso de calor, há estimulação da área pré-óptica hipotalâmica anterior do cérebro. Os impulsos neurais oriundos dessa área são transmitidos por vias autônomas para a medula espinhal e posteriormente, através do simpático, para a pele em todas as partes do corpo (GUYTON; HALL, 2006; KATZUNG, 2010).

A glândula sudorípara é demonstrada como uma estrutura tubular que consiste em duas partes: uma porção enovelada subdérmica profunda e um ducto que passa através da derme e epiderme da pele (Figura 2) (GUYTON; HALL, 2006; PALASTANGA; SOAMES, 2012).

Fibras nervosas simpáticas colinérgicas que terminam sobre ou próximo às células epiteliais que revestem a porção enovelada da glândula sudorípara desencadeiam a secreção, sendo que o produto secretório ativo das células é chamado de secreção primária ou precursora. A composição da secreção precursora é similar à do plasma, não contendo as proteínas plasmáticas. Conforme essa solução precursora flui através do ducto da glândula, ela se modifica pela reabsorção de grande parte dos íons de sódio e íons cloreto (GUYTON; HALL, 2006).

Quando as glândulas sudoríparas são levemente estimuladas, o líquido precursor passa lentamente através do ducto e todos os íons sódio e íons cloreto

são reabsorvidos. Isto reduz a pressão osmótica do suor para um nível em que grande parte da água também é reabsorvida, concentrando ainda mais os outros constituintes. Portanto, em baixos índices de sudorese, constituintes como ureia, ácido láctico e íons potássio geralmente estão bastante concentrados (GUYTON; HALL, 2006; PERRONE, 2010).

Inversamente, quando as glândulas sudoríparas são intensamente estimuladas pelo sistema nervoso simpático uma grande quantidade de secreção precursora é formada e o ducto é capaz de reabsorver um pouco mais da metade do cloreto de sódio. Além disso, o suor flui mais rápido através dos túbulos glandulares fazendo com que pouca água seja reabsorvida (GUYTON; HALL, 2006, PERRONE, 2010).

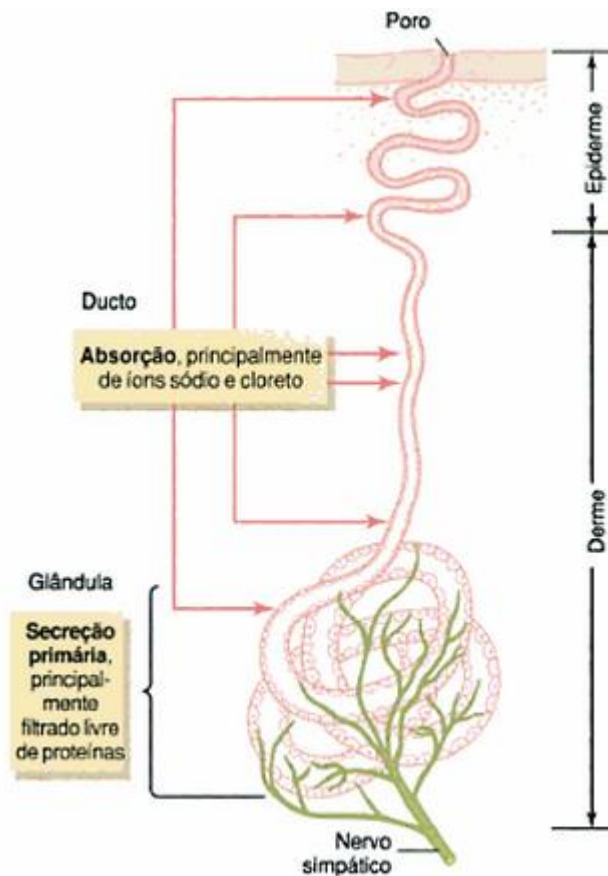


Figura 2 – Glândula sudorípara demonstrada como uma estrutura tubular.
Fonte: Guyton e Hall, 2006.

2.2 PRINCIPAIS BACTÉRIAS RELACIONADAS AO MAU ODOR AXILAR

Nas axilas está presente a microbiota cutânea que é subdividida em microbiota residente e microbiota transitória. A maioria das bactérias cutâneas reside na superfície do estrato córneo, parte superior dos folículos pilosos, sulcos da pele e ductos das glândulas sebáceas. Entretanto, algumas se encontram mais profundamente e possuem a função de recolonizar a pele quando as bactérias mais superficiais são removidas (COSTA; CUNHA; SERAFINI, 2005; FIORENTINO, 2009; KAMPF, 2003; KONG; SEGRE, 2012; TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

A microbiota transitória se constitui de grande variedade de micro-organismos que colonizam a pele por um período limitado de tempo e são facilmente eliminados por simples higienização. Ela se adere fracamente à pele por contato e encontra-se mais superficialmente, junto à gordura e às sujidades, sobrevivendo por curto período de tempo. É constituída principalmente por *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* sp. A higienização com água e sabão pode diminuir em 90% o número de micro-organismos pertencentes principalmente à microbiota transitória. No entanto, cerca de 8 horas após este procedimento a população bacteriana é reconstituída pela microbiota residente, a qual é eliminada através o uso de antissépticos (FIORENTINO, 2009).

A microbiota cutânea residente estende-se por toda a pele, apresentando-se em maior quantidade nas áreas mais úmidas e quentes como axilas e períneo. Podem atingir cerca de 10^6 unidades formadoras de colônias (UFC)/cm² nessas áreas, e nas demais regiões, em torno de 10^4 UFC/cm² (FIORENTINO, 2009).

Dentre os diferentes gêneros bacterianos que compõem a microbiota residente encontram-se *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Proteus* e *Propionibacterium*, sendo o *Staphylococcus coagulase* negativo responsável pelo odor axilar clássico de ácido isovalérico e os gêneros *Corynebacterium* e *Micrococcus* responsáveis pelo odor axilar pungente dos esteróides androgênicos (COSTA; CUNHA; SERAFINI, 2005; FIORENTINO, 2009; FREDRICH et al., 2013; MISHRA; AGRAWAL, 2012). Já a espécie *Proteus vulgaris* é responsável pelo odor fecal, sendo o sulfeto de hidrogênio o seu principal produto de degradação (BARATA, 2003). Enquanto a linhagem de *Propionibacterium acnes*, principal espécie do gênero encontrada na pele, é associada com a atividade secretora das

glândulas sebáceas sendo responsável pela formação de acne (SCHAFER et al., 2013; TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

No estudo de COSTA; CUNHA; SERAFINI (2005) foi identificada a microbiota axilar de 22 indivíduos entre 20 a 40 anos de idade na cidade de Goiânia - Brasil, sendo encontradas 84% de bactérias Gram-positivas e 16% de Gram-negativas. As bactérias Gram-positivas do gênero *Staphylococcus* coagulase negativo foram os micro-organismos predominantes (54.8%), seguidos do gênero *Corynebacterium* (19,4%) e *Micrococcus* (9,7%). Dentre as bactérias Gram-negativas, o gênero *Proteus* foi isolado em 2 indivíduos (6.5%).

2.2.1 *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis é uma bactéria Gram-positiva presente em forma de cocos e tétrades (Figura 3). É a espécie predominante na pele e nas mucosas, presente em 90% dos indivíduos e representa mais de 50% do gênero *Staphylococcus* residente. É considerado normalmente inofensivo por fazer parte da microbiota normal e aparece em maior quantidade nas extremidades do corpo. Sua predominância é justificada pela sua capacidade de produzir bacteriocinas ativas contra outras bactérias Gram-positivas que poderiam competir por nichos de colonização. Embora estejam presentes na superfície das áreas descamadas da pele, podem ser encontrados também nas aberturas dos folículos pilosos atuando como reservatório para substituir a microbiota superficial após higienização. Além disso, a oclusão da pele conduz a um grande aumento do número de bactéria (GLOSTER, 2008; HOIBY et al., 1997; ROBINSON et al., 2001; TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

Essa bactéria é pertencente a categoria do *Staphylococcus* coagulase negativo, sendo registrada a seleção de espécies multirresistentes em ambientes com elevado uso de antibióticos, principalmente após o tratamento medicamentoso com ciprofloxacina e outras quinolonas. Essa espécie pode formar biofilmes que agem como uma barreira protetora e impedem o acesso dos neutrófilos, dificultando assim o tratamento medicamentoso quando associado a patologia (GLOSTER, 2008; HOIBY et al., 1997; ROBINSON et al., 2001).

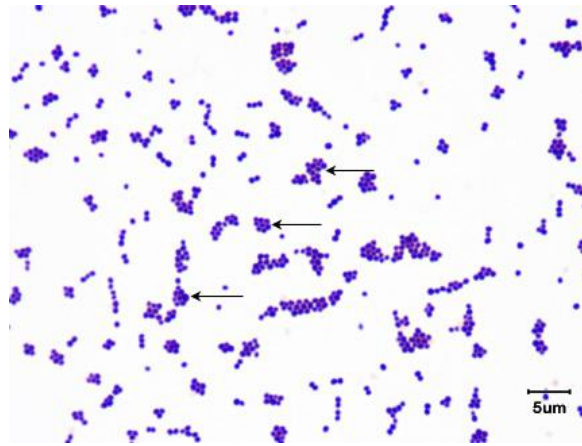


Figura 3 - *Staphylococcus epidermidis* visualizados após a coloração de Gram. As setas indicam o agrupamento em cocos. Fonte: Kaiser, 2009.

2.2.2 *Proteus vulgaris*

Proteus vulgaris é um bacilo Gram-negativo pleomórfico, pertencente à família Enterobacteriaceae (Figura 4). Possui uma grande variação em tamanho e formato, pode se apresentar em formas semelhantes ao coco até filamentos muito longos. Apresentam-se dispostos isoladamente, em pares ou em longas cadeias. Além da pele, as espécies desse gênero podem estar presentes no solo e na água, que contém decomposição da matéria orgânica de origem animal (MANOS; BELAS, 2006).

As bactérias desse gênero são muitas vezes motivo de preocupação na cicatrização de feridas, acarretando a perda de pele e também em infecções no trato urinário em pacientes hospitalizados em uso de catéteres (BAO et al., 1996; MANOS; BELAS, 2006). De acordo com Deetae e colaboradores (2011), a espécie *Proteus vulgaris* tem capacidade de produzir uma ampla variedade e quantidade de compostos voláteis dependendo das condições de cultivo.

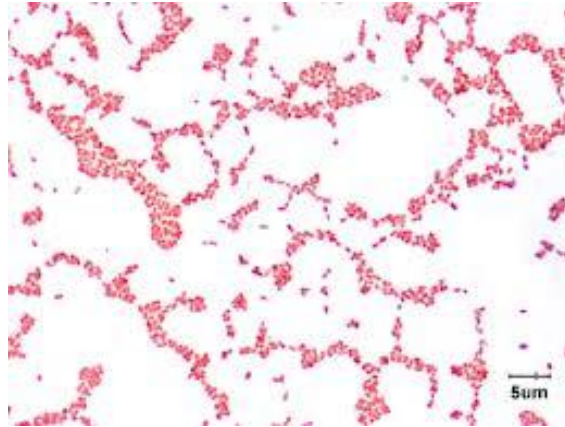


Figura 4 - *Proteus vulgaris* visualizados após a coloração de Gram.
Fonte: Kaiser, 2009.

2.2.3 *Micrococcus luteus*

O *Micrococcus luteus* é uma bactéria Gram-positiva presente em forma de cocos e tétrades (Figura 5). Ela é caracterizada pela produção de pigmentos amarelos insolúveis em água. As espécies do gênero *Micrococcus* são comumente isoladas da pele, no entanto podem ser encontradas no solo, sedimentos e na água (DIB et al., 2010; GREENBLATT et al., 2004).

Essa bactéria se assemelha morfológicamente ao *Staphylococcus* spp., já que ambos se arranjam em tétrades e pertencem a microbiota normal. Os micrococos se diferenciam dos estafilococos devido às diferenças na composição de seus DNAs, por serem aeróbios estritos, apresentarem atividade oxidase, serem susceptíveis a bacitracina e resistentes à ação da lisostafina e da furazolidona. Das seis espécies de *Micrococcus* spp. conhecidas, o *Micrococcus luteus* é o único cujo principal habitat é a pele (KOOKEN; F. FOX; ALVIN FOX, 2011; MELTER; TKADLEC; SEDLÁČEK, 2012; TRABULSI; ALTERTHUM, 2008). Eles sobrevivem em condições com elevadas concentrações de cloreto de sódio (NaCl) (maior que 7,5%), o que contribui para a sobrevivência na região das axilas. Além disso, utilizam carboidratos e aminoácidos como fonte de carbono e energia. A maioria das espécies do gênero possuem queratinases e proteases podendo usar os polímeros da pele como fontes de nutrientes (WILSON, 2005).

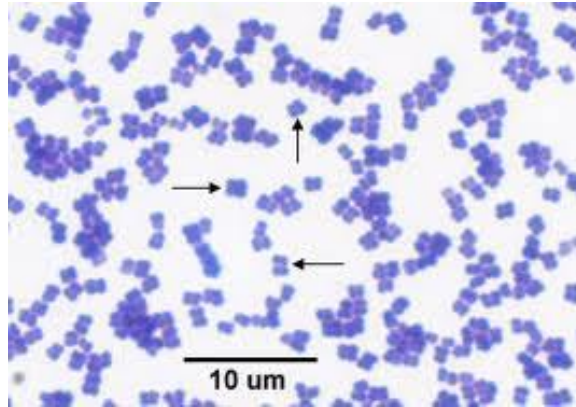


Figura 5 - *Micrococcus luteus* visualizados após a coloração de Gram. As setas indicam o agrupamento em tétrades.
Fonte: Kaiser, 2009.

2.2.4 *Corynebacterium xerosis*

Corynebacterium xerosis é uma bactéria comensal Gram-positiva presente na pele, no saco conjuntival e na faringe (Figura 6). Apresenta-se na forma de bastonete pleomórfico e é também conhecida por aparecer como contaminante em cultura de sangue, sendo a causa de alguns casos de endocardite infecciosa em pacientes imunocomprometidos ou com próteses de válvulas cardíacas (PESSANHA et al., 2003).

Na pele, as bactérias do gênero *Corynebacterium* são bastante frequentes e são encontradas na maioria das pessoas. Crescem em elevadas concentrações de NaCl (acima de 10%), sendo capazes de colonizar áreas da pele com grandes quantidades de sal, como as axilas (WILSON, 2005).

A glicose e uma ampla variedade de aminoácidos estão presentes no suor, pois várias enzimas proteolíticas produzidas pela microbiota cutânea liberam aminoácidos provenientes das proteínas da pele. Bactérias pertencentes a esse gênero, além de utilizarem carboidratos e aminoácidos como fontes de carbono e energia, incorporam aminoácidos em proteínas celulares e alguns são essenciais para o crescimento bacteriano. Diferentemente das outras espécies presentes na pele, as linhagens *Corynebacterium* spp. requerem uma série de vitaminas como riboflavina, nicotinamida, tiamina, pantotenato e biotina. Muitas dessas estão

presentes no suor e outras são liberadas pela morte de queratinócitos (WILSON, 2005).

Segundo Fredrich e colaboradores (2013), as linhagens *Corynebacterium* spp. e *Staphylococcus* spp. prevalecem na microbiota residente da pele, sendo que os primeiros são os responsáveis pela liberação da maioria dos compostos relacionados ao odor axilar. Estes incluem compostos de enxofre, derivados de esteroides e ácidos graxos de cadeia curta voláteis, cuja combinação e proporções representam a intensidade do odor axilar humano. O maior impacto no odor axilar deriva de compostos voláteis de enxofre, que também são resultantes da ação dos *Staphylococcus* spp.. Tais compostos apresentam um baixo limiar olfativo e representam um mau cheiro típico de cebola e almiscarado.

Já foram relatadas linhagens de *Corynebacterium* spp. contendo plasmídeos de resistência ao cloranfenicol, eritromicina, quinolonas, estreptomicina e tetraciclina (GUIRAO et al., 2000; HERNÁNDEZ et al., 2003).

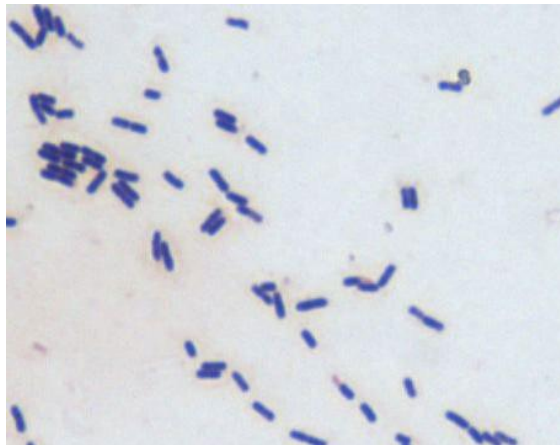


Figura 6 - *Corynebacterium xerosis* visualizados após a coloração de Gram.
Fonte: Smith; Hussey, 2005.

2.3 MERCADO DE PRODUTOS DE HIGIENE PESSOAL, PERFUMARIA E COSMÉTICOS

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (2005), produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes são preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência e/ou corrigir odores corporais e ou protegê-los ou mantê-los em bom estado.

Mundialmente, a indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (HPPC) movimentou U\$425,8 bilhões em 2011, contra U\$387,7 bilhões em 2010 (ABIHPEC, 2012). Atualmente, o Brasil ocupa o 3º lugar mundial no setor de HPPC correspondendo a 10,1% no mercado, perdendo somente para os Estados Unidos e o Japão. Em 2011, o crescimento do Brasil nesse setor foi de 18,9%, o maior entre os 10 maiores mercados (Tabela 1). O Brasil cresceu acima da média mundial, já que o setor de HPPC por todo o mundo cresceu apenas 9,84% e, portanto, nosso país ocupa, atualmente, a primeira posição no *ranking* mundial de desodorantes e fragrâncias (EUROMONITOR INTERNACIONAL, 2012).

O excelente crescimento no uso de produtos de higiene pessoal entre os brasileiros parece ser devido à diversos fatores, dentre eles: crescente participação da mulher brasileira no mercado de trabalho; a expansão da classe C; a utilização de tecnologia de ponta e o conseqüente aumento da produtividade, favorecendo os preços praticados pelo setor, que tem aumentos menores do que os índices de preços da economia em geral; lançamentos constantes de novos produtos atendendo cada vez mais às necessidades do mercado e ao aumento da expectativa de vida, o que traz a necessidade de conservar uma impressão de juventude (ABIHPEC, 2012).

Tabela 1 – Panorama mundial do setor de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos.

Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos	2010	2011	Crescimento	Participação
	U\$\$ Milhões (preço ao consumidor)	U\$\$ Milhões (preço ao consumidor)	(%)	(%)
Estados Unidos	60.744,0	63.086,4	3,9	14,8
Japão	43.381,7	47.267,7	9,0	11,1
Brasil	36.186,9	43.028,5	18,9	10,1
China	23.879,4	19.419,9	9,5	4,6
Alemanha	17.730,3	19.419,9	9,5	4,6
França	16.079,1	17.294,7	7,6	4,1
Reino Unido	15.592,8	17.019,8	9,2	4,0
Rússia	12.373,0	14.187,0	14,7	3,3
Itália	12.158,1	12.964,7	6,6	3,0
Espanha	10.473,3	11.007,4	5,1	2,6
Mundo	387.727,1	425.866,5	9,8	

Fonte: Euromonitor Internacional, 2012.

2.4 MERCADO VERDE

Há uma demanda crescente no mundo de um mercado consumidor cada vez mais adepto às campanhas do chamado “consumo verde”, ou seja, produtos elaborados com base em ativos naturais (Gráfico 1) (MIGUEL, 2011). O mercado internacional de produtos naturais para cuidado pessoal segue um crescimento médio anual avaliado em torno de 8 a 25%. Enquanto que para os mercados de produtos sintéticos, a taxa média de crescimento gira em torno de 3 a 10% (JONES; DUERBECK, 2004).

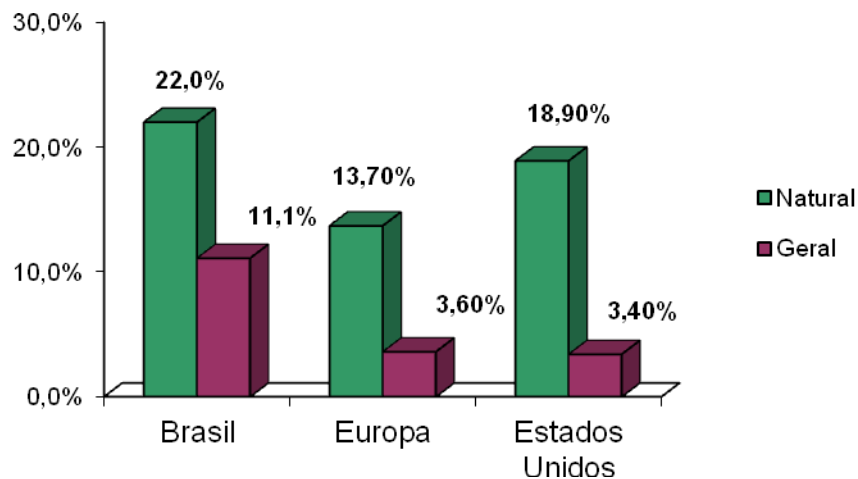


Gráfico 1 – Aumento do número de consumidores de produtos naturais em relação aos de beleza em geral.

Fonte: Adaptado de *Factor The Kline Group*, 2009.

O grande impulsionador deste mercado de produtos naturais é a demanda de consumidores que acreditam nas vantagens desses produtos. Esse público está cada vez mais interessado em verificar a composição da formulação de produtos de higiene pessoal visando a presença de extratos naturais, bem como ingredientes orgânicos certificados (ANTIGNAC et al., 2011; DEEPAK; YOGITA; MEENAKSHI, 2013).

A expansão do consumo de produtos desenvolvidos com ativos naturais vai ao encontro de valores da sociedade contemporânea e que estão relacionados à qualidade de vida em geral, à beleza, ao bem-estar e ao prazer, em que a saúde, a estética, a juventude e a aparência saudável podem ser obtidas a partir do uso de ingredientes e formulações da natureza. A demanda por esses tipos de produtos também está associada à entrada de grandes empresas do setor nesse segmento, ao “*marketing ambiental*” ou “*ecológico*”, às mudanças nos indicadores demográficos em relação ao envelhecimento da população e ao crescimento do interesse populacional por produtos dermocosméticos (MIGUEL, 2011).

Segundo a *Organic Monitor* (2012), uma empresa de consultoria de negócios e pesquisa especializada em produtos orgânicos, os consumidores estão se voltando para produtos de higiene pessoal naturais, devido às preocupações de saúde em relação aos produtos químicos sintéticos, tais como parabenos e ftalatos.

De acordo com o Grupo *National Purchase Diary* (NPD), um dos principais provedores de informação de *marketing* dos Estados Unidos, dois entre três

consumidores afirmam que estão dispostos a comprar produtos de beleza contendo produtos naturais. Além disso, o Grupo britânico *Mintel*, responsável por pesquisas e análises de mercado, prevê que o mercado verde, inclusive produtos de higiene pessoal e produtos de limpeza, irá crescer 19% até 2013 (HAPPI, 2009). Para estabelecer uma posição no mercado em expansão, as indústrias estão lançando cada vez mais uma série de novos produtos afirmando ser naturais, além de estarem apostando também em formulações orgânicas (HAPPI, 2009).

Dentro desse contexto, a indústria da beleza está progressivamente movendo em direção a sustentabilidade, que tornou-se a base de uma nova era do capitalismo (GIROTTI, 2012). Esta mudança, para empresas de cosméticos, significa mover-se em direção a formulações inovadoras, embalagens *eco-friendly*, redução das emissões de carbono, pesquisa de materiais alternativos e investimentos na dimensão social e ética do mundo da beleza, ou seja, trabalhar em causas sociais e éticas, como a proteção dos direitos humanos e o bem-estar animal (GIROTTI, 2012).

Segundo a *Union for Ethical BioTrade* (2012), 85% dos consumidores em todo mundo buscam ingredientes naturais nos produtos cosméticos. Quando estes dados são analisados no Brasil, este número sobe para 94%. Como demonstrado na Figura 7, o Brasil tem grande potencial para o mercado verde.



Figura 7 – Razões que colocam o Brasil com grande potencial para o mercado verde.
Fonte: *Factor The Kline Group*, 2009.

2.5 DESODORANTES E ANTITRANSPIRANTES

Existem três formas distintas de reduzir ou controlar o odor das axilas: reduzir ou eliminar as secreções dos dois tipos de glândulas, impedir o crescimento bacteriano e adsorver os odores corporais. Com estas finalidades, encontram-se disponíveis duas categorias diferentes de produtos: desodorantes e antitranspirantes (antiperspirantes) (HAUSNER, 1993).

Apesar de existirem relatos do uso de fragrâncias no Antigo Egito e em Roma, dentre os vários produtos de higiene pessoal, os antitranspirantes e os desodorantes só foram introduzidos no mercado no início do século XX, quando a transpiração e o odor corporal começaram a ser considerados inconvenientes (HAUSNER, 1993).

Os desodorantes são produtos aplicados topicamente, que contêm agentes antimicrobianos que agem inibindo o crescimento bacteriano evitando, portanto, o cheiro desagradável dos compostos de secreção microbianos. Podem conter também fragrâncias que mascaram as substâncias odoríferas presentes no suor ao mesmo tempo que apresentam atividade biocida. O triclosan é uma das substâncias antissépticas mais empregadas neste tipo de produto (KLASCHKA, 2012). Apesar de os desodorantes pertencerem à categoria de produto de higiene pessoal pela ANVISA, muitos os consideram como cosméticos por promover atratividade e aceitação social, mascarando o odor sem afetar a estrutura e a função corporal (MCGRATH, 2009).

A diferença entre os desodorantes e os antitranspirantes é que os últimos são produtos que restringem a quantidade de secreção das glândulas sudoríparas na zona tratada, evitando os efeitos desagradáveis do suor. Atuam, limitando a quantidade de suor liberado na superfície da pele, logo o mecanismo de ação pode envolver um decréscimo na produção de suor a nível glandular, formação de um tampão no ducto, alteração na permeabilidade do ducto aos fluidos, ou algumas das outras várias teorias, envolvendo conceitos, como potencial eletrofisiológico ao longo do ducto sudoríparo. Derivados de alumínio constituem as principais substâncias empregadas em formulações antitranspirantes (EGBUOBI et al., 2013; NASCIMENTO; RAFFIN; GUTERRES, 2004).

Além de inibir ou diminuir a transpiração, os antitranspirantes também podem ser coloridos e/ou perfumados bem como associados aos desodorantes. Assim,

existe a classificação de desodorante antitranspirante que possui a função de controlar o odor corporal e ao mesmo tempo controlar a transpiração. A maioria dos antitranspirantes também funciona como desodorante, mas a maior parte dos desodorantes não age como antitranspirante (ANVISA, 1977; DRAELOS, 1999).

A ANVISA classifica os desodorantes como produtos Grau 1 que se caracterizam por possuírem propriedades básicas ou elementares, cuja comprovação não seja inicialmente necessária e não requeiram informações detalhadas quanto ao seu modo de usar e suas restrições de uso, devido às suas características intrínsecas. Diferentemente dos antitranspirantes classificados como produtos Grau 2, cujas características exigem comprovação de segurança e/ou eficácia, bem como informações e cuidados, modo e restrições de uso.

Mais de 90% dos consumidores adultos nos Estados Unidos usam antitranspirantes ou desodorantes regularmente. Existem várias formulações e formas de apresentação: *roll-on*, *spray*, aerossol, creme, entre outros, sendo a maioria destinada para o uso em axilas (BENOHANIAN, 2001). O mercado alemão de desodorantes faturou € 705 milhões em 2010 e foi o grupo de produtos cosméticos de maior aumento em relação aos dois anos anteriores (KLASCHKA, 2012). De acordo com Lorenz e colaboradores (2011), 65,2% dos homens adultos e 73,3% das mulheres adultas aplicam desodorantes pelo menos uma vez por dia na Alemanha.

O controle de odor pode ser alcançado através de vários meios, sendo as medidas básicas de higiene (sabão e água) as mais importantes. Odor corporal é também controlado por agentes antimicrobianos como os compostos de amônio quaternário e o triclosan. Por vezes, o veículo de um produto pode agir como antibacteriano, tais como álcool etílico (DRAELOS, 1995).

Alguns dos ingredientes utilizados em desodorantes estão listados no Quadro 1.

Quadro 1 – Ingredientes comumente utilizados em desodorantes.

INGREDIENTES	COMENTÁRIOS
Triclosan	Desenvolvido por Ciba Geigy, o triclosan é ativo contra um amplo espectro de micro-organismos Gram-positivos e Gram-negativos. É um dos ativos mais empregados em desodorantes.
Triclocarban	Amplamente utilizado em sabões desodorantes, possuem uso limitado em desodorantes axilares.
Compostos de amônio quaternário	O cloreto de benzalcônio é um agente pertencente à este grupo de compostos. São potentes bactericidas em baixas concentrações. São amplamente usados em antissépticos desinfetantes. Frequentemente combinados com clorexidina.
Sais de metais	Os sais de alumínio e os de zircônio são os mais empregados. Atuam como antiperspirantes, mas em altas concentrações possuem efeito desodorante via dois possíveis mecanismos: reduzindo o suor e/ou pela ação antimicrobiana.
Álcools alifáticos e glicóis	O mais conhecido é o propilenoglicol. O propilenoglicol é um líquido incolor e inodoro. Ele é usado como veículo em desodorantes e outras formulações dermatológicas. O próprio propilenoglicol possui propriedades antimicrobianas e antifúngicas.
Fragrâncias	São os ingredientes mais frequentemente utilizados, eles são responsáveis por mascarar odores.

Fonte: Benohanian, 2001.

2.5.1 Problemas relacionados aos desodorantes

Apesar de os cosméticos mais modernos e os produtos de higiene pessoal serem considerados seguros para a maioria dos usuários, um número significativo de consumidores já apresentaram alguma reação adversa. Sob certas circunstâncias, esses produtos podem causar dermatite e urticárias induzidas por reações de hipersensibilidade imediata tipo I ou por mecanismos não imunológicos ainda incompreendidos. Alguns indivíduos podem sentir coceira, ardência ou queima sem lesões visíveis com a aplicação de produtos de cuidados da pele (SCHEMAN, 2000).

A maioria dos consumidores de desodorantes não sofre efeitos secundários indesejados. No entanto, os efeitos negativos, como asma, enxaqueca, neurotoxicidade, carcinogenicidade ou outros efeitos prejudiciais, provocados por

fragrâncias são observados e discutidos na literatura (CADBY et al., 2002; KLASCHKA, 2012; RASTOGI et al., 2001; THYSSEN et al., 2009; ORTON; WILKINSON, 2004).

A dermatite de contato alérgica é o efeito cutâneo adverso mais comum associado com o uso de fragrâncias, que se manifesta principalmente como eczema subaguda ou crônica (ARRIBAS; SORO; SILVESTRE, 2013). De acordo com Heisterberg e colaboradores (2011), desodorantes foram os principais culpados pela alergia de contato provocada por fragrância, seguido por loções perfumadas. Nardelli e colaboradores (2011) demonstraram que os desodorantes fizeram parte do terceiro grupo mais importante de cosméticos responsáveis por provocar dermatite de contato alérgica. A sensibilidade aumentada da pele das axilas é caracterizada pela maior penetração de substâncias provocada pela umidade e calor. Reações alérgicas em axilas podem ser provocadas por concentrações mais baixas de alérgenos de fragrâncias do que em outras partes do corpo.

O principal instrumento jurídico da União Européia para lidar com sensibilizadores de fragrâncias é a "regra dos 26 alergênicos" para cosméticos e produtos de limpeza. A presença das 26 presumíveis fragrâncias alergênicas deve ser indicada nas embalagens quando a concentração de um dos 26 exceder a 0,001%. Os 26 compostos de fragrâncias listados em "a regra de alérgenos de 26" têm diferentes potências alergênicas, classificadas de acordo com um estudo feito em 21.000 indivíduos. Outros ingredientes em desodorantes que podem ser críticos para a saúde humana ou o ambiente são o etanol e o triclosan (KLASCHKA, 2012).

As 26 presumíveis fragrâncias alergênicas estão listadas no Quadro 2, de acordo com a *International Nomenclature of Cosmetic Ingredient (INCI)*, um sistema internacional de codificação da nomenclatura de ingredientes cosméticos, reconhecido e adotado mundialmente, o qual foi criado com a finalidade de padronizar os ingredientes na rotulagem dos produtos cosméticos.

Além dos problemas relacionados às fragrâncias, também já foram comprovados os efeitos deletérios provocados pelo triclosan, conhecido comercialmente como irgasan ou irgacare. Esta substância possui ação principalmente contra micro-organismos Gram-positivos e menor atividade contra Gram-negativos, especialmente *Pseudomonas* spp. e *Serratia* spp. (KAYE, 2000).

Quadro 2 – Lista das presumíveis fragrâncias alergênicas, de acordo com a *International Nomenclature of Cosmetic Ingredient*.

POTENCIAL ALERGÊNICO	NOMECLATURA EM PORTUGUÊS	<i>International Nomenclature of Cosmetic Ingredient</i>
FORTE	Lyrat [®] Hidroxicitronelal Farnesol Isoeugenol Aldeído cinâmico Extrato de musgo de árvore Extrato de musgo de carvalho	hydroxyisohexyl 3- cyclohexene- carboxaldehyde hydroxycitronellal farnesol isoeugenol cinnamal <i>Evernia furfuracea</i> extract <i>Evernia prunastri</i> extract
MÉDIO	Citronelol Geraniol Lilial Cumarina Eugenol Citral Álcool cinâmico Cinamato benzílico Álcool cinamílico	citronellol geraniol butylphenyl methylpropional coumarin eugenol citral cinnamyl alcohol benzyl cinnamate cinnamyl alcohol
FRACO	D-limoneno Linalol metil ionona gama α -hexil aldeído cinâmico Álcool benzílico Salicilato benzílico Benzoato benzílico α -amil aldeído cinâmico Álcool anisil Carbonato metilheptina	d-limonene linalool alpha-isomethyl ionone hexyl cinnamal benzyl alcohol benzyl salicylate benzyl benzoate amyl cinnamal anise alcohol methyl 2-octynoate

Fontes: Adaptado de Ministério da Saúde, 2009.

Como o triclosan é um agente antimicrobiano comumente detectado em efluentes de estações de tratamento de esgoto e água de abastecimento, foi evidenciada uma associação entre essa substância e o aumento da resistência aos antibióticos como β -lactâmicos, aminoglicosídeos, cloranfenicol, ampicilina, tetraciclina, isoniazida e quinolonas. Ainda foram encontradas espécies resistentes

(*Escherichia* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp. e *Citrobacter* spp.), o que aumenta a preocupação do uso indiscriminado desse agente antisséptico no desenvolvimento de resistências bacterianas (BUTLER et al., 2012; LIO; KAYE, 2011; MIDDLETON; SALIERNO, 2013; PROIA et al., 2011; SHERIDAN et al., 2012; YAZDANKHAH et al., 2006; ZARATE JR. et al., 2012). Além disso, o triclosan demonstrou ser um desregulador endócrino em humanos e animais, sendo classificado como um poluente de alta prioridade pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (CHEN et al., 2013).

O alto consumo de triclosan provoca uma grande preocupação ambiental por ter sido encontrado em águas de rios e lagos, sedimentos, peixes, e até mesmo no leite humano (TAMURA et al., 2012). Foi relatado que podem ser formados clorofórmio e compostos orgânicos clorados pela reação do triclosan com o cloro livre na água de torneira (FISS; RULE; VIKESLAND, 2007; VANDERFORD et al., 2008). Embora o triclosan não seja considerado altamente tóxico para os mamíferos, o contrário é verdadeiro para os organismos aquáticos, peixes e algumas espécies de algas (LU; MA; TAO, 2009). Dessa forma, a utilização de triclosan em produtos de higiene pessoal é permitida em uma concentração máxima de 0,3% pela ANVISA.

As tecnologias atualmente empregadas no tratamento de esgoto doméstico e de águas de abastecimento ainda não são eficientes na remoção total dessa substância ou em concentrações nas quais seus efeitos não sejam observados (MELO, 2010). Um aditivo popular de desodorantes e sabonetes, hexaclorofeno, foi proibido pela *Food and Drug Administration* (FDA) em todos os produtos sem receita médica em Setembro de 1972. Muitas empresas foram forçadas a reformular os seus produtos de desodorantes porque foram demonstradas lesões cerebrais em animais alimentados com doses elevadas de hexaclorofeno (DRAELOS, 1995).

2.6 PLANTAS MEDICINAIS: FONTE DE ANTIMICROBIANOS

Substâncias químicas derivadas de animais, plantas e micro-organismos têm sido usadas para tratar patologias humanas, desde os primórdios da medicina (DURMIC; BLACHE, 2012). Até a metade do século XX, o uso de medicamentos de origem sintética tornou-se mais amplo que o uso de plantas medicinais, principalmente na sociedade ocidental, com destaque para os países desenvolvidos visto que os países em desenvolvimento permaneceram fazendo uso das propriedades curativas das plantas, devido às difíceis condições econômicas de aquisição dos medicamentos sintéticos (SOUZA-MOREIRA et al., 2010).

Atualmente, a cultura do uso de plantas e de outras fontes naturais com propriedades terapêuticas vem sendo valorizada pela sociedade do mundo inteiro, devido à busca por hábitos mais saudáveis de vida, pelo difícil tratamento de certas doenças e resistência microbiana (MACHADO; RIBEIRO; DRUZIAN, 2013; PROESTOS et al., 2013; SOUZA-MOREIRA et al., 2010). Entre 1981 e 2006, das 1184 novas entidades químicas (NCEs) aprovadas como medicamentos pela FDA, 48% eram provenientes, análogos ou derivados de produtos naturais. Portanto, produtos naturais ainda são considerados uma fonte significativa no desenvolvimento de novos medicamentos (WANG et al., 2011).

Metabólitos especiais não participam diretamente no crescimento, desenvolvimento e reprodução das espécies vegetais, mas têm funções importantes de defesa e de sinalização, ou servem como pigmentos ou fragrâncias. Os metabólitos especiais podem variar de espécie para espécie e compreendem um conjunto diversificado de estruturas químicas complexas. Geralmente, eles não possuem valor nutricional, mas uma dieta rica nessas substâncias pode estimular o sistema imunológico ou proteger o corpo humano (MARIENHAGEN; BOTT, 2012). Mais de 200.000 estruturas químicas são listadas como metabólitos especiais de plantas, englobando muitas classes químicas, incluindo flavonóides, taninos, saponinas, alcalóides, glicosídeos cianogênicos, terpenos, entre outros (DURMIC; BLACHE, 2012).

Ricos em reatividade química e diversidade estrutural, os produtos naturais formam um extraordinário conjunto de produtos potencialmente úteis industrialmente. Muitos produtos modernos, incluindo plásticos, combustíveis,

produtos químicos intermediários e fibras encontram a sua origem em produtos naturais a partir de plantas e animais (TAO, 2007). A tendência do crescimento do consumo de produtos com apelo natural também desperta o interesse da produção em maior escala de uma diversidade de produtos de alto valor agregado, como são os medicamentos fitoterápicos, cosméticos, produtos de higiene pessoal bem como variados tipos de bebidas e alimentos (MARQUES, 2008; TEIXEIRA et al., 2013).

Ingredientes vegetais utilizados em produtos de higiene pessoal incluem uma variedade de preparações, tais como extratos de plantas, tinturas, lípidos, hidratos de carbono vegetais, óleos essenciais, bem como substâncias isoladas tais como vitaminas, antioxidantes entre outras com atividade biológica. A variedade de plantas que fornecem estes ingredientes incluem desde plantas de alimentos básicos (cereais, frutas, legumes, raízes, bulbos, especiarias) até aquelas empregadas na medicina tradicional que podem ser obtidos a partir de plantas cultivadas ou selvagens (ANTIGNAC et al., 2011).

Diversas frutas, sobretudo das espécies de origem tropical compõem a base para a formulação de cosméticos e têm sido utilizadas em diversos produtos, principalmente em cremes, xampus e condicionadores. Já os óleos vegetais ou fixos são compostos basicamente por triglicérides, têm seu uso difundido na indústria de cosméticos como ingredientes de bases, emolientes e hidratantes. Dentre todos os produtos, um dos principais materiais de base natural para a produção de cosméticos diz respeito aos óleos essenciais (MIGUEL, 2011).

2.6.1 Óleos essenciais

Ao longo da história, foi comprovado o amplo uso de óleos originários de plantas como alimentos, fontes de energia, medicamentos e em aplicações cosméticas. Eles têm sido utilizados na produção de lubrificantes, sabonetes e produtos de higiene pessoal, bem como no tratamento tópico no combate contra caspas do couro cabeludo, espasmos musculares, varizes e feridas (VERMAAK et al., 2011).

Óleos essenciais são misturas complexas de vários tipos de classes de moléculas incluindo terpenóides, compostos fenólicos, aromáticos, cíclicos e

acíclicos, acetonídeos e compostos contendo enxofre e nitrogênio. Sua presença varia de acordo com a planta. Podem ser extraídos por destilação a vapor, solventes apolares, dióxido de carbono supercrítico e fluorocarbonetos a partir de várias partes das plantas incluindo flores, folhas, frutos, cascas de frutos, sementes, galhos, caules e raízes (NAKATSU et al., 2000).

Em sua forma bruta ou processada, os óleos essenciais possuem componentes bioquímicos que são usados industrialmente como fixadores, fragrâncias, aromas e condimentos. Na escala mundial de produção de óleos essenciais, cerca de 20 óleos representam quase 75% do total produzido. Por outro lado, no mundo são registradas mais de 300 substâncias de aplicação industrial e mesmo que não representem grandes volumes de produção, envolvem importantes trocas comerciais (MIGUEL, 2011).

Nas plantas, os óleos essenciais possuem funções ecológicas, especialmente como inibidores da germinação, na proteção contra predadores, na atração de polinizadores, na proteção contra a perda de água, aumento da temperatura, entre outras (LUPE, 2007). Já na indústria, o uso de extratos e óleos essenciais, em particular, no ramo de perfumes é muito antigo por apresentarem características bioquímicas favoráveis como matérias-primas. Porém, as demais aplicações desses tipos de espécies oleaginosas também são encontradas nos segmentos industriais de alimentos, aromatizantes, bebidas, química e farmacêutica (MIGUEL, 2011).

Apesar de alguns óleos essenciais já serem conhecidos devido às suas propriedades antibacterianas, antifúngicas, antivirais e antioxidante, o recente aumento do interesse no consumo verde ocasionou um aumento do interesse científico sobre eles. Tem sido demonstradas que várias plantas medicinais contendo óleos essenciais inibem significativamente um amplo espectro de micro-organismos, podendo ser usados na fabricação de sabonetes, produtos de higiene, desodorantes, bem como para mascarar ou aromatizar produtos de limpeza e inseticidas (FERNANDES et al., 2013; LV et al., 2011; SILVA FILHO; RODRIGUES, 2012).

Alguns óleos essenciais ou alguns de seus componentes têm sido incorporados em cremes, loções, formulações lipossômicas para o uso externo no tratamento de doenças de pele ou para o uso cosmético. Com isso os óleos essenciais podem melhorar a penetração de antissépticos na pele e sua associação

com alguns antimicrobianos pode restaurar a inibição de micro-organismos resistentes (SOLÓRZANO-SANTOS; MIRANDA-NOVALES, 2012).

Devido a crescente procura por novas matérias primas na área de produtos naturais, a exploração comercial da flora aromática representa um importante nicho de mercado. No entanto, deve-se levar em consideração a exploração dos recursos naturais disponíveis se atentando à conservação dos ecossistemas, além do fornecimento contínuo de matéria prima (GUBERT, 2011). Os óleos essenciais são biodegradáveis, sendo que muitos de seus constituintes permanecem pouco tempo no meio ambiente. Não foram descritos bioacumulação e biomagnificação desses compostos, apesar da possibilidade de ocorrer efeito alelopático ou fitotoxicidade (REGNAULT-ROGER; VINCENT; ARNASON, 2012).

O perfil químico do óleo essencial varia não só no número, mas também na estereoquímica das moléculas. Essa variação pode ocorrer devido ao tipo de extração, o qual é escolhido de acordo com a finalidade da utilização. O produto de extração pode variar em qualidade, quantidade e na composição de acordo com o clima, composição do solo, órgão da planta, idade e estágio do ciclo vegetativo. Assim, para se obter óleos essenciais de composição constante, a extração deve ser feita sempre sob as mesmas condições (BAKKALI et al., 2008). O controle de qualidade de substâncias naturais, através de técnicas analíticas modernas, tem um papel primordial na constância em composição das mesmas, fator importante para os produtos desenvolvidos em escala industrial a partir de produtos naturais (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). De acordo com a RDC nº 17, de 16 de abril de 2010, para o controle de qualidade do derivado vegetal, devem ser informados os solventes, excipientes e/ou veículos utilizados na extração; métodos de extração empregados; parte da planta utilizada; relação aproximada droga vegetal:derivado vegetal e presença de resíduos de solvente. São também solicitados testes físico-químicos, que incluem: densidade, índice de refração, rotação óptica (para óleos essenciais), além da análise quali e quantitativa. Existem hoje aproximadamente 3000 óleos conhecidos e 300 comercializados (LANGEVELD; VELDHUIZEN; BURT, 2013; LUPE, 2007).

Diferentes estudos demonstraram a eficácia dos óleos essenciais e os seus compostos ativos no controle ou inibição do crescimento de micro-organismos patogênicos e relataram a sua dependência de pH, a estrutura química e concentração do composto ativo ou óleos essenciais, além do número e do tipo de

micro-organismos. As propriedades antimicrobianas do grande número de diferentes grupos de compostos químicos presentes nos óleos essenciais não são devidos a um mecanismo específico, mas vários alvos na célula podem contribuir para a sua eficácia (NEGI, 2012). Isso os possibilita serem considerados possuidores de baixo risco de desenvolvimento de resistência microbiana (SOUZA et al., 2005).

2.6.2 *Origanum vulgare* Linnaeus

O gênero *Origanum* pertence à família Lamiaceae sendo representado por 23 espécies (GULLUCE et al., 2012). A espécie *Origanum vulgare*, conhecida como orégano, é considerada um dos condimentos mais usados no mundo e é aceito oficialmente em inúmeros países pelo seu valor medicinal. Suas flores e folhas são usadas extensivamente em homeopatia e seu óleo essencial é usado na medicina tradicional indiana como um aroma estimulador e fortificante (RODRIGUES, 2002, SANKAR et al., 2013).

A maioria das espécies *Origanum* é nativa das regiões do Mediterrâneo (Grécia, Irã e Turquia), com ocorrência abundante no leste europeu, no oriente asiático e nas Américas do Sul e do Norte (BUSATTA, 2007; LICINA et al., 2013). Devido sua ampla variedade de características químicas e de aroma, diferentes espécies e biótipos de *Origanum* são amplamente utilizados como insumo na indústria farmacêutica e cosmética (SAHIN et al., 2004), como erva culinária (SOUZA et al., 2005), como flavorizante de alimentos (STOJKOVIĆ et al., 2013), em bebidas alcoólicas (SOUZA et al., 2007) e em perfumaria na obtenção e fragrâncias picantes (CARMO; LIMA; SOUZA, 2008).

Estudos indicam que o orégano possui vários efeitos biológicos como antioxidante (KARAKAYA et al. 2011), antimutagênico (GULLUCE et al., 2012), antiespasmódico (TORRES et al., 2008), expectorante (ARSLAN; ILHAN; KARABULUT; 2013), antimicrobiano (BARANAUSKIENÉ et al., 2013), carminativo e antitussígeno (KAURINOVIC et al., 2011) e também tem sido usado na medicina tradicional para o tratamento de várias doenças, incluindo distúrbios digestivos e problemas menstruais (SIKANDER et al., 2012).

O óleo essencial de orégano apresenta vários compostos fenólicos e acredita-se que estes sejam responsáveis por sua intensa atividade antimicrobiana. Muitos pesquisadores atribuem à presença do carvacrol como responsável por essa ação (Figura 8). Este constituinte é frequentemente encontrado como composto majoritário e a hidroxila fenólica em sua estrutura química forma ligação de hidrogênio com os sítios ativos de enzimas microbianas alvo (SOUZA et al., 2005). Porém, os componentes minoritários de óleos essenciais também podem exercer importante papel no desencadeamento dos fenômenos envolvidos na eficiência da atividade antimicrobiana (SOUZA et al., 2005).

Acredita-se, então, que cada componente do óleo essencial tem sua própria contribuição no desencadeamento das suas propriedades biológicas (efeito antagônico ou sinérgico) e que a complexidade da mistura dos compostos presentes torna mais difícil à adaptabilidade dos micro-organismos resultando no menor risco de desenvolvimento de resistência microbiana (SOUZA et al., 2005; LANGEVELD; VELDHUIZEN; BURT, 2013).

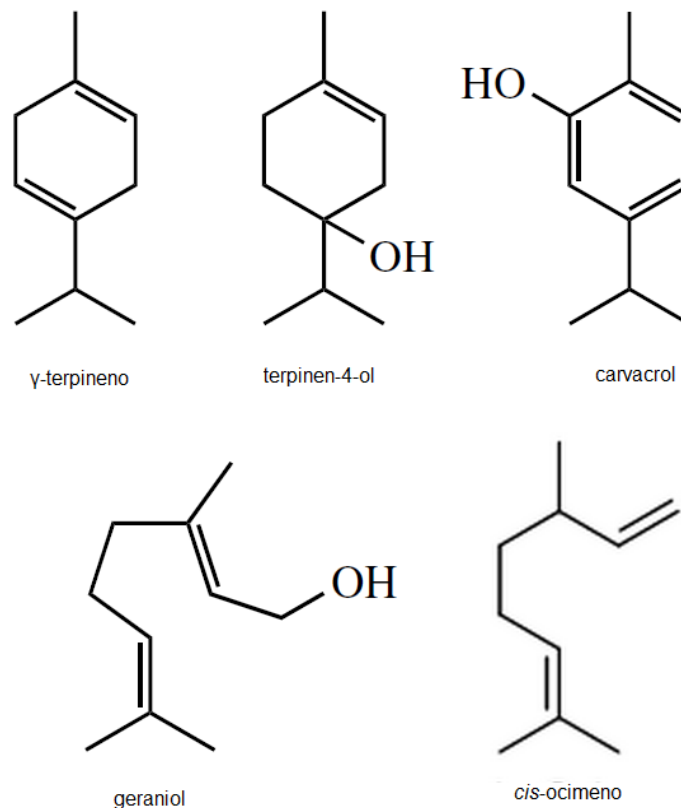


Figura 8 – Principais contituientes químicos encontrados no óleo essencial de orégano.
Fonte: Dewick, 2002.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Investigar o potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Origanum vulgare* frente às principais linhagens bacterianas responsáveis pelo mau odor axilar.

3.2 ESPECÍFICOS

Avaliar a constituição química dos principais componentes do óleo de *Origanum vulgare* por cromatografia gasosa de alta resolução (CG-AR).

Avaliar a atividade antimicrobiana e estabelecer a concentração inibitória mínima (CIM) do óleo de *Origanum vulgare* frente às linhagens de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Micrococcus luteus* ATCC 7468 e *Corynebacterium xerosis* IAL 105.

Avaliar as alterações nas estruturas morfológicas causadas pelo óleo de interesse e os fármacos de referência nas linhagens das bactérias envolvidas no estudo utilizando a microscopia eletrônica de varredura.

Desenvolver um desodorante antitranspirante que contenha somente o óleo essencial de *O. vulgare* como ativo antimicrobiano.

Avaliar a atividade antimicrobiana e avaliar as alterações nas estruturas morfológicas causadas pelo desodorante antitranspirante frente às linhagens de interesse utilizando a microscopia eletrônica de varredura.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ÓLEO ESSENCIAL DE *Origanum vulgare*

Foi utilizado o óleo essencial das folhas de *Origanum vulgare* (lote 660411) adquirido comercialmente da empresa brasileira Lazlo Aromatologia LTDA, que utiliza a metodologia de extração por destilação por arraste a vapor. A planta foi cultivada convencionalmente.

4.2 PERFIL CROMATOGRÁFICO DO ÓLEO ESSENCIAL

Para a identificação qualitativa e quantitativa de seus constituintes químicos, o óleo essencial de orégano foi analisado por CG-AR no Departamento de Química/Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

A análise foi feita em cromatógrafo a gás HP-5890 equipado com detector de ionização de chama (do inglês *Flame Ionization Detector* - FID) e módulo de injeção com razão de divisão (*split*) de 1/50. O volume de injeção foi de 1 µL de amostra. As amostras foram diluídas a 0,5% em clorofórmio. Como gás de arraste foi utilizado o hidrogênio a uma vazão de 2 mL/min. A programação da temperatura do forno foi de uma isoterma inicial de 1 minuto a 60°C, seguida da taxa de 3°C/min até atingir a temperatura de 220°C. A temperatura utilizada no injetor e no detector foi de 220°C. A coluna utilizada foi HP-BP1 de 30 m de comprimento por 0,25 mm de diâmetro interno. A identificação dos picos foi feita por cálculo de tempo de retenção, com padrões de hidrocarbonetos lineares de C₁₀ a C₁₈ e dados da literatura (ADAMS, 2009).

4.3 MICRO-ORGANISMOS DE INTERESSE

Foram utilizadas linhagens provenientes da *American Type Culture Collection* (ATCC): *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Proteus vulgaris* ATCC 13315 e *Micrococcus luteus* ATCC 7468, sendo empregado o caldo *Müller Hinton* como meio de cultura e linhagem proveniente do Instituto Adolfo Lutz (IAL): *Corynebacterium xerosis* IAL 105, utilizando o caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) como meio de cultura.

4.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL

4.4.1 Triagem e concentração inibitória mínima

Para a realização do ensaio foi utilizado o método turbidimétrico empregando a técnica de microdiluição em caldo.

Uma suspensão bacteriana foi padronizada com solução fisiológica estéril (9,0 g/L NaCl) até a obtenção de 25% de transmitância, lida em espectrofotômetro (Libra S12, Biochrom, Dinamarca) no comprimento de onda fixo de 580 nm. A suspensão microbiana padronizada foi submetida à diluição seriada com solução fisiológica estéril. Após 24 horas, foi feita a contagem das UFC, em meio de cultivo *Tryptone Soy Agar* (TSA), a fim de se obter uma suspensão de $10^3 - 10^4$ UFC/mL (adaptado de USP, 1985; CANDAN et al., 2003).

Para o preparo da amostra com o óleo essencial, foram dissolvidos 9,83 µL do óleo de orégano em 9,83 µL de DMSO PA/Tween 80 (1:1, v/v). Posteriormente, o volume foi completado para 1500 µL de salina estéril, a fim de se obter a concentração de 5600 µg/mL de óleo essencial. A partir desta, foram preparadas mais 4 diluições sucessivas (2800, 1400, 700 e 350 µg/mL).

Para o preparo da amostra contendo triclosan, foram dissolvidos 2 mg de triclosan em 20 µL de DMSO PA/Tween 80 (1:1, v/v). Posteriormente, o volume foi completado para 1000 µL de salina estéril a fim de se obter a concentração de 2000

$\mu\text{g/mL}$. A partir dessa amostra, foram preparadas mais 12 diluições sucessivas (0,48 – 1000 $\mu\text{g/mL}$).

Na microplaca estéril foram pipetados 100 μL de caldo inoculado e 100 μL das amostras teste nas respectivas concentrações preparadas. As concentrações finais testadas para o óleo essencial foram de 175 a 2800 $\mu\text{g/mL}$ e para o triclosan foram de 0,24 a 1000 $\mu\text{g/mL}$.

Para o controle negativo do meio de cultura, foram transferidos 100 μL de caldo estéril na microplaca e para o controle positivo, 100 μL do meio de cultura inoculado. Paralelamente foram realizados os controles do DMSO PA/Tween 80 (1:1, v/v). Para o controle negativo, foram transferidos para microplaca: 100 μL de caldo e 100 μL da solução de 20 μL de DMSO PA/Tween 80 (1:1, v/v) diluídos em 980 μL de salina e essa solução adicionada do inóculo para o controle positivo.

Foi realizado também o controle da esterilidade do óleo essencial (meio de cultura e óleo) para garantir a ausência de contaminação microbiana do mesmo.

Os fármacos de referência utilizados foram o cloranfenicol (0,025 – 250 $\mu\text{g/mL}$) e a neomicina (0,0125 – 125 $\mu\text{g/mL}$). O preparo dos mesmos foi realizado conforme as recomendações da farmacopeia americana (USP, 1985). Na microplaca estéril foram pipetados 100 μL de caldo inoculado e 100 μL de cada concentração do fármaco. Posteriormente, a microplaca foi homogeneizada em agitador de microplacas (SI-0400, *Genie Scientific*, Estados Unidos). A incubação foi feita em estufa à temperatura de 35°C por 24 horas. Após o período de incubação, foram transferidos 20 μL de cada poço para tubo de ensaio contendo 4 mL de caldo *Brain Heart Infusion* estéril para *C. xerosis* e o caldo *Tryptone Soya Broth* (TSB) estéril para as demais bactérias. Os tubos de ensaios foram incubados em estufa à temperatura de 35°C por 24 horas.

Para avaliação do crescimento bacteriano na microplaca, foi preparada uma solução indicadora de resazurina 0,1 mg/mL em água destilada estéril e, posteriormente, foram transferidos 30 μL /poço. Após homogeneização, a microplaca foi reincubada por 4 horas. Após este período, foi realizada a leitura visual final através da coloração do meio. A coloração azul indicou ausência de crescimento microbiano, enquanto a cor rosa indicou presença de células viáveis em crescimento.

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada através da observação da coloração dos poços contendo a solução indicadora. A ação do óleo

(bactericida ou bacteriostático) foi interpretada através da turvação dos tubos de ensaio contendo meio de cultura após o período de incubação, analisada conjuntamente com os resultados obtidos na microplaca. A turbidez do meio de cultura após o período de incubação indicou ação bacteriostática e a não turbidez indicou ação bactericida. O procedimento foi realizado em triplicata.

A partir dos resultados de CIM encontrados, foi calculada a porcentagem (p/v) de óleo essencial capaz de inibir o crescimento bacteriano.

4.4.2 Microscopia eletrônica de varredura

O material utilizado para observação por microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi composto por colônias das espécies bacterianas submetidas a nenhum tipo de tratamento (controle negativo), colônias expostas ao óleo, ao triclosan e aos fármacos de referência. O preparo das amostras foi realizado conforme método descrito por Gao e colaboradores (2011) com algumas modificações.

Para o preparo da suspensão bacteriana foi empregado o mesmo procedimento de padronização da atividade antimicrobiana, a fim de se obter uma suspensão de $10^3 - 10^4$ UFC/mL. Foram transferidos para a microplaca 100 μ L de caldo inoculado e após a incubação em estufa à temperatura de 35°C por 24 horas, foram transferidos o óleo de orégano e os fármacos de referência para os seus respectivos poços. Após esse procedimento, a microplaca foi reincubada novamente.

No presente estudo, as concentrações utilizadas para o óleo de orégano, os fármacos de referência e o triclosan foram os valores de CIM bactericida encontrados, exceto para o *S. epidermidis* em que foi exposto a CIM bacteriostática para o óleo essencial de orégano.

As amostras foram, então, centrifugadas 5000 x g por 10 minutos (Eppendorf, 5417R, Alemanha) e os *pellets* foram transferidos para lamínulas de vidro e fixados com solução de glutaraldeído 2,5% por 12 horas. Após este período, as lamínulas foram lavadas com tampão fosfato 0,1M pH=7,4 e desidratadas com concentrações crescentes de etanol (50% a 100%), com intervalo de 20 minutos entre cada troca. Em seguida, as lamínulas foram secas à temperatura ambiente e colocadas em

suportes de alumínio (*stubs*), com fita de carbono dupla face. Posteriormente, as lamínulas foram levadas ao metalizador (Balzers Union FL – 9496, Balzers, Alemanha) por 5 minutos, resultando em uma camada de 2 nm de ouro-paládio sobre as mesmas. A seguir, foram observadas ao MEV (JSM 5310, Jeol, Japão), sob as condições de 25 Kv de potência e distância de trabalho de 17 mm. As análises foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica de Varredura do Museu Nacional (UFRJ).

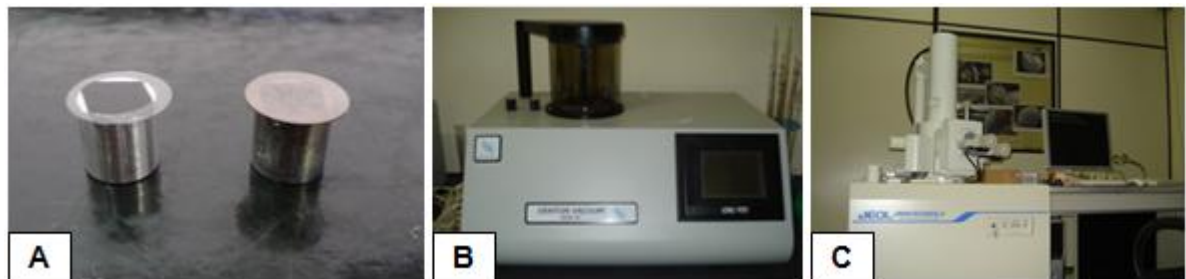


Figura 9 – Materiais e equipamentos necessários para a análise das estruturas morfológicas das linhagens bacterianas por microscopia eletrônica de varredura.

A) Stubs antes e após o processo de metalização, B) Metalizador, C) Microscópio eletrônico de varredura.

Fonte: a autora.

4.5 DESENVOLVIMENTO DO DESODORANTE ANTITRANSPIRANTE CONTENDO OLEO ESSENCIAL DE *O. vulgare*

Para o preparo da formulação, 2 g do óleo de orégano foi dissolvido em 60 mL de álcool de cereais. Em seguida, foi adicionado 1 mL de propilenoglicol e 1 mL de glicerina. Após esse procedimento, foram adicionados 4 mL de solução de cloridrato de alumínio a 50%, com posterior homogeneização. Sob agitação, adicionou-se a água deionizada até que completasse o volume de 100 mL (Figura 10).

Quadro 3 – Composição do desodorante antitranspirante contendo o óleo de *O. vulgare*.

Componentes	Função farmacotécnica	Concentração
Álcool de Cereais	solubilizante	60%
Óleo essencial de orégano	ativo antimicrobiano	2%
Cloridróxido de Alumínio	adstringente/antiperspirante	2%
Propilenoglicol	umectante	1%
Glicerina	umectante/hidratante	1%
Água deionizada	veículo	qsp 100%



Figura 10 – Desodorante antitranspirante desenvolvido.
Fonte: a autora

4.6 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO DESODORANTE ANTITRANSPIRANTE

4.6.1 Triagem

Cada bactéria foi inoculada em tubos de ensaio contendo 4 mL de TSB (exceto *C. xerosis* que foi inoculado em BHI) e foram incubados a 35°C por 24 horas. Em seguida, cada cultura foi estriada em TSA vertido em placas de Petri e incubada a 35°C por 24 horas. As placas contendo as colônias crescidas foram borrifadas com o desodorante antitranspirante desenvolvido, de modo que toda a superfície entrasse em contato com o produto. Após o período de incubação (35°C por 24

horas), foram retiradas colônias de diferentes regiões da superfície do TSA e foram inoculadas em tubos de ensaio contendo 4 mL de TSB (BHI para *C. xerosis*) para verificar a viabilidade celular. A ausência de turvação do meio de cultura significou ação bactericida da formulação. Como controle, foram realizados os mesmos procedimentos com as culturas bacterianas não expostas a formulação. O ensaio foi realizado em triplicata. Paralelamente, foi realizada a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Origanum vulgare* a 2% conforme o item 4.4.1 como controle da formulação.

4.6.2 Microscopia eletrônica de varredura

Para as análises empregando a MEV, foram utilizadas as placas de Petri com as colônias bacterianas expostas a formulação conforme realizado no item 4.6.1. As colônias de diferentes áreas do TSA foram transferidas para lamínulas 2 e 24 horas após a aplicação da formulação. A fixação e os procedimentos posteriores foram realizados conforme a metodologia descrita para o óleo essencial (item 4.4.2) até a observação ao MEV (QUANTA 250, FEI, Estados Unidos).

As análises foram realizadas no Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Laboratório de Ultraestrutura Celular Hertha Meyer (UFRJ).

5 RESULTADOS

5.1 PERFIL CROMATOGRÁFICO DO ÓLEO ESSENCIAL

Através da análise de CG-AR, foram identificados 17 constituintes representando 91,6% da constituição total do óleo essencial analisado. Picos menores que 0,1%, foram equivalentes a 8,4% e não foram considerados neste estudo. O óleo essencial de *O. vulgare* apresentou o γ -terpineno como componente majoritário (30,5%), seguido pelo carvacrol (15,7%), terpinen-4-ol (13,0%), geraniol (7,1%) e *cis*-ocimeno (7,0%). Esses cinco constituintes se apresentaram em maiores concentrações em relação aos outros componentes identificados, perfazendo um total de 73,3% da constituição química do óleo (Figura 11 e Tabela 2).

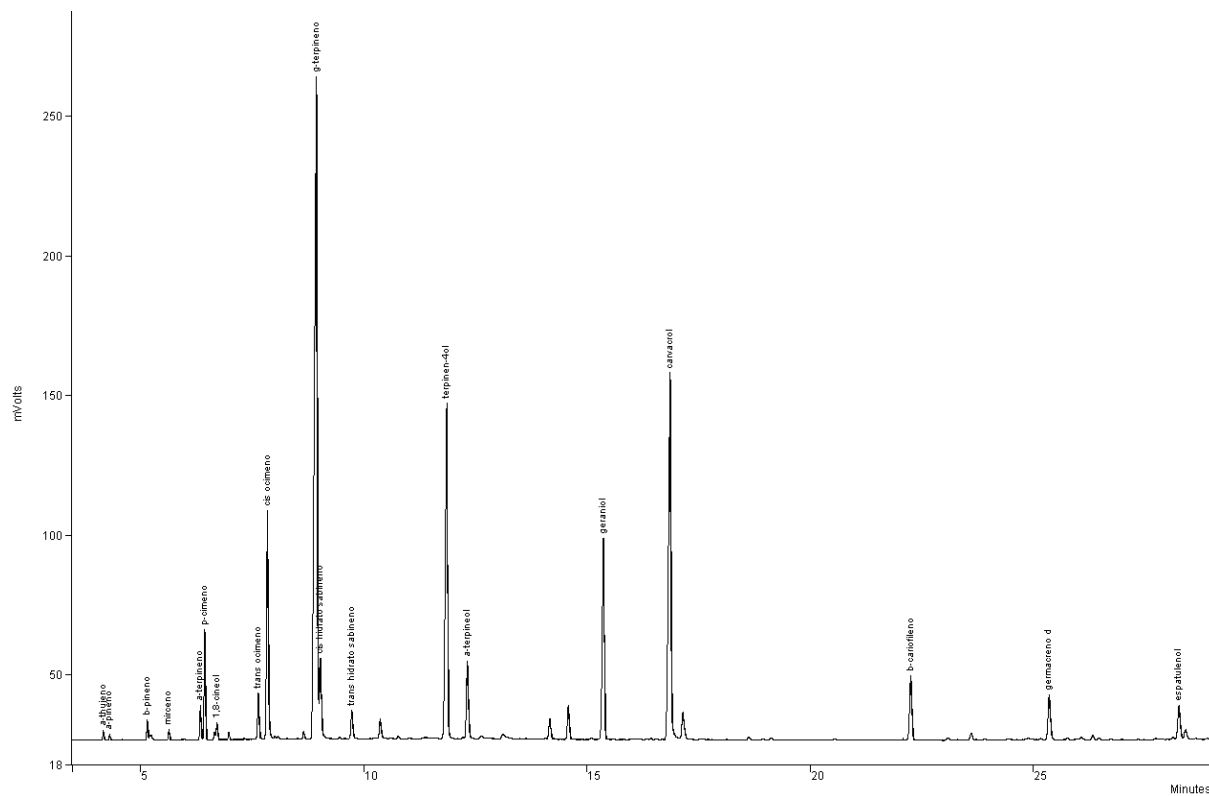


Figura 11 - Perfil cromatográfico do óleo essencial de *O. vulgare*.

Condições de análise: coluna: BP1 30 m x 0,25 mm (HP). Temperaturas: da coluna = 60°C (1 minuto), 3°C/minuto, até 220°C, do injetor = 220°C *Split*: 1/50, do detector por ionização em chama: 220°C; volume de injeção: 1 uL (concentração 0.5 % em clorofórmio). Picos menores que 0,1% foram excluídos.

Tabela 2 - Composição química do óleo essencial de *O. vulgare* obtida por cromatografia gasosa de alta resolução.

Pico	Índice de Kovats calculado	Constituintes	%
1	973	β -pineno	0,4
2	986	mirceno	0,2
3	1017	α -terpineno	0,8
4	1024	<i>p</i> -cimeno	2,5
5	1031	1,8-cineol	0,5
6	1049	<i>trans</i> -ocimeno	1,3
7	1056	<i>cis</i> -ocimeno	7,0
8	1081	γ -terpineno	30,5
9	1085	<i>cis</i> -hidrato sabineno	2,8
10	1101	<i>trans</i> -hidrato sabineno	1,0
11	1158	terpinen-4-ol	13,0
12	1170	α -terpineol	2,9
13	1223	geraniol	7,1
14	1241	carvacrol	15,7
15	1297	β -cariofileno	2,5
16	1471	germacreno D	1,9
17	1545	espatulenol	1,5
Total			91,6

5.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL

5.2.1 Triagem e concentração inibitória mínima

O óleo essencial de orégano apresentou atividade antimicrobiana frente a todas as linhagens testadas. Foi observada atividade bactericida frente a três das quatro bactérias analisadas e atividade bacteriostática frente a todas. Os valores de CIM estão representados na Tabela 3.

Adicionalmente, foi calculada a porcentagem (p/v) de óleo essencial capaz de inibir o crescimento bacteriano, convertida a partir dos valores de CIM encontrados (Tabela 4). O maior valor de CIM foi de 0,28%, resultado importante para a definição da porcentagem de óleo essencial contida no desodorante antitranspirante. A porcentagem das outras substâncias (triclosan e fármacos de referência) não foi calculada, pois não participam da composição do desodorante antitranspirante desenvolvido.

Tabela 3 – Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *O. vulgare*, triclosan e fármacos de referência.

Micro-organismos	Concentração inibitória mínima (µg/mL)			
	Óleo de orégano	Triclosan	Cloranfenicol	Neomicina
<i>S. epidermidis</i>		3,9*	25*	1,25*
ATCC 12228	2800**	0,48**	2,5**	
<i>P. vulgaris</i>	1400*	0,97*	25*	12,5*
ATCC 13315	700**		2,5**	
<i>M. luteus</i>	2800*	62,5*	25*	125*
ATCC 7468	700**	1,95**	2,5**	12,5**
<i>C. xerosis</i>	1400*	62,5*	250*	1,25*
IAL 105	700**	7,81**	25**	

* bactericida; **bacteriostático.

Tabela 4 – Concentração inibitória mínima do óleo essencial de *O. vulgare*.

AÇÃO	Concentração inibitória mínima (% p/v)			
	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>P. vulgaris</i> ATCC 13315	<i>M. luteus</i> ATCC 7468	<i>C. xerosis</i> IAL 105
Bactericida	-	0,14	0,28	0,14
Bacteriostática	0,28	0,07	0,07	0,07

(-) não detectada nas concentrações testadas.

Pode-se observar que o óleo de orégano demonstrou atividade antimicrobiana frente a todas as bactérias testadas, sendo bactericida frente a *P. vulgaris* (CIM=1400 µg/mL), *M. luteus* (CIM=2800 µg/mL) e *C. xerosis* (CIM=1400 µg/mL). *S. epidermidis* foi o único micro-organismo que não sofreu efeito bactericida nas condições testadas. No entanto, demonstrou atividade bacteriostática com CIM=2800 µg/mL, os demais micro-organismos também apresentaram atividade bacteriostática com CIM=700 µg/mL. O triclosan demonstrou atividade bactericida frente a todas as bactérias testadas com valores variando entre 0,97 e 62,5 µg/mL e apresentou atividade bacteriostática frente a três das quatro bactérias testadas: *S. epidermidis* (CIM=0,48 µg/mL), *M. luteus* (CIM=1,95 µg/mL) e *C. xerosis* (CIM=7,81 µg/mL). Os fármacos de referência (cloranfenicol e neomicina) demonstraram atividade bactericida e/ou bacteriostático como previsto para a validação do ensaio.

5.2.2 Microscopia eletrônica de varredura

Foram obtidas eletromicrografias das linhagens bacterianas de interesse não expostas a qualquer tipo de tratamento (controle negativo) e expostas ao óleo essencial, ao triclosan e aos fármacos de referência (cloranfenicol e neomicina). Nota-se que houve alteração na estrutura das bactérias tratadas quando comparadas ao controle negativo. As células não expostas a qualquer tipo de tratamento apresentaram superfície regular, enquanto o óleo essencial bem como o triclosan e os fármacos de referência demonstraram ser capazes de alterar a membrana celular bacteriana. As células submetidas à ação dos agentes antimicrobianos revelaram deformidades em sua estrutura (aparecimento de fissuras

e orifícios, desintegração da membrana celular, aglomeração das células, extravasamento celular) com provável destruição celular (Figura 12, 13, 14 e 15).

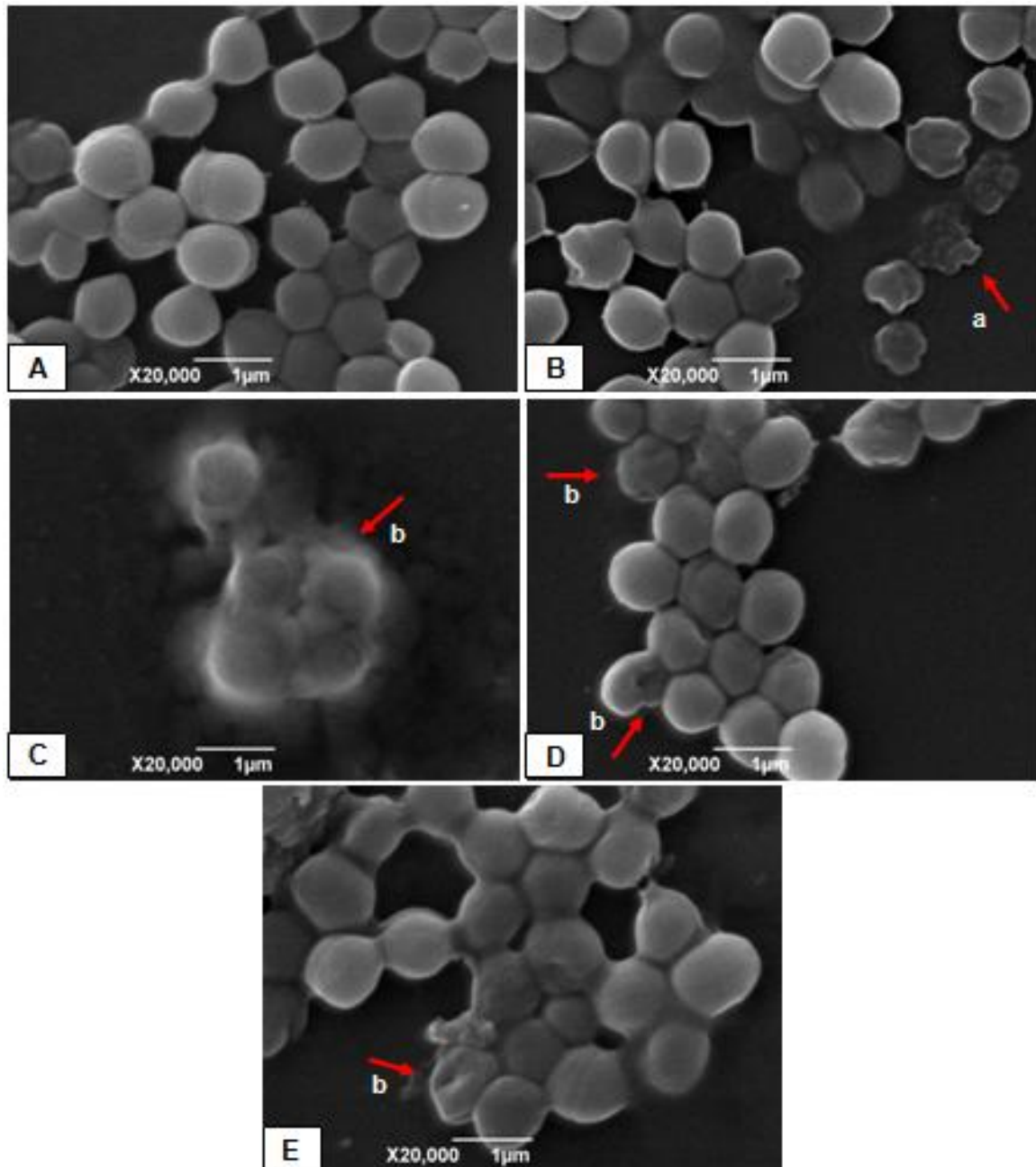


Figura 12 - Eletromicrografias de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 expostos aos tratamentos experimentais. A) Não exposto ao óleo essencial de interesse, B) exposto ao cloranfenicol a 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, C) exposto a neomicina a 1,25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, D) exposto ao triclosan a 3,9 $\mu\text{g}/\text{mL}$, E) exposto ao óleo essencial de *O. vulgare* a 2800 $\mu\text{g}/\text{mL}$. "a": células destruídas. "b": células deformadas/aglomeradas. Magnitude: 20000x. As barras representam 1 μm .

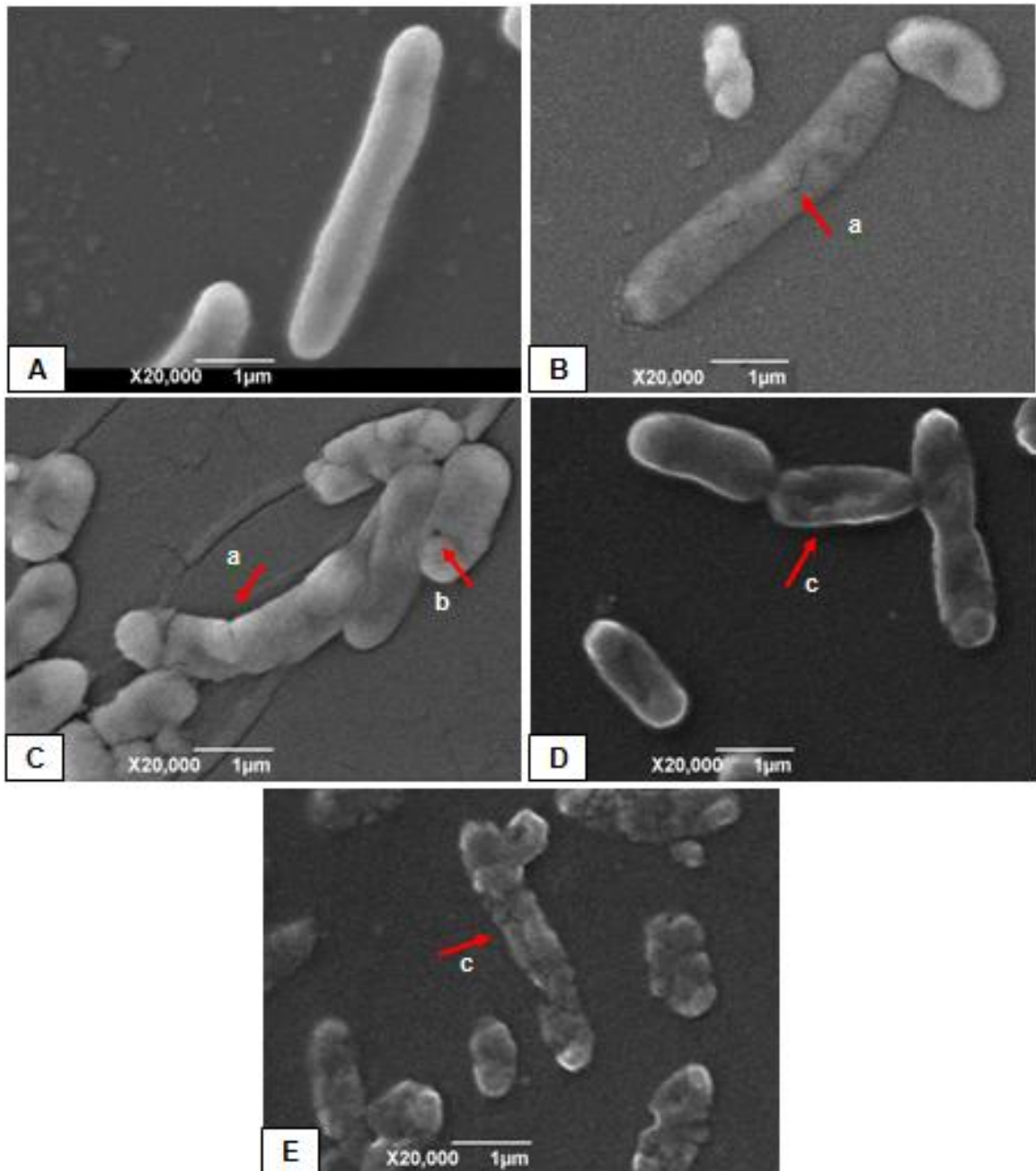


Figura 13 - Eletromicrografias de *Proteus vulgaris* ATCC 13315 expostos aos tratamentos experimentais. A) Não exposto ao óleo essencial de interesse, B) exposto ao cloranfenicol a 25 µg/mL, C) exposto a neomicina a 12,5 µg/mL. D) exposto ao triclosan a 0,97 µg/mL, E) exposto ao óleo essencial de *O. vulgare* a 1400 µg/mL. "a": formação de fissura indicando rompimento da membrana celular, "b": orifício indicando formação de um poro, "c": células deformadas/compactadas/destruídas. Magnitude: 20000x. As barras representam 1 µm.

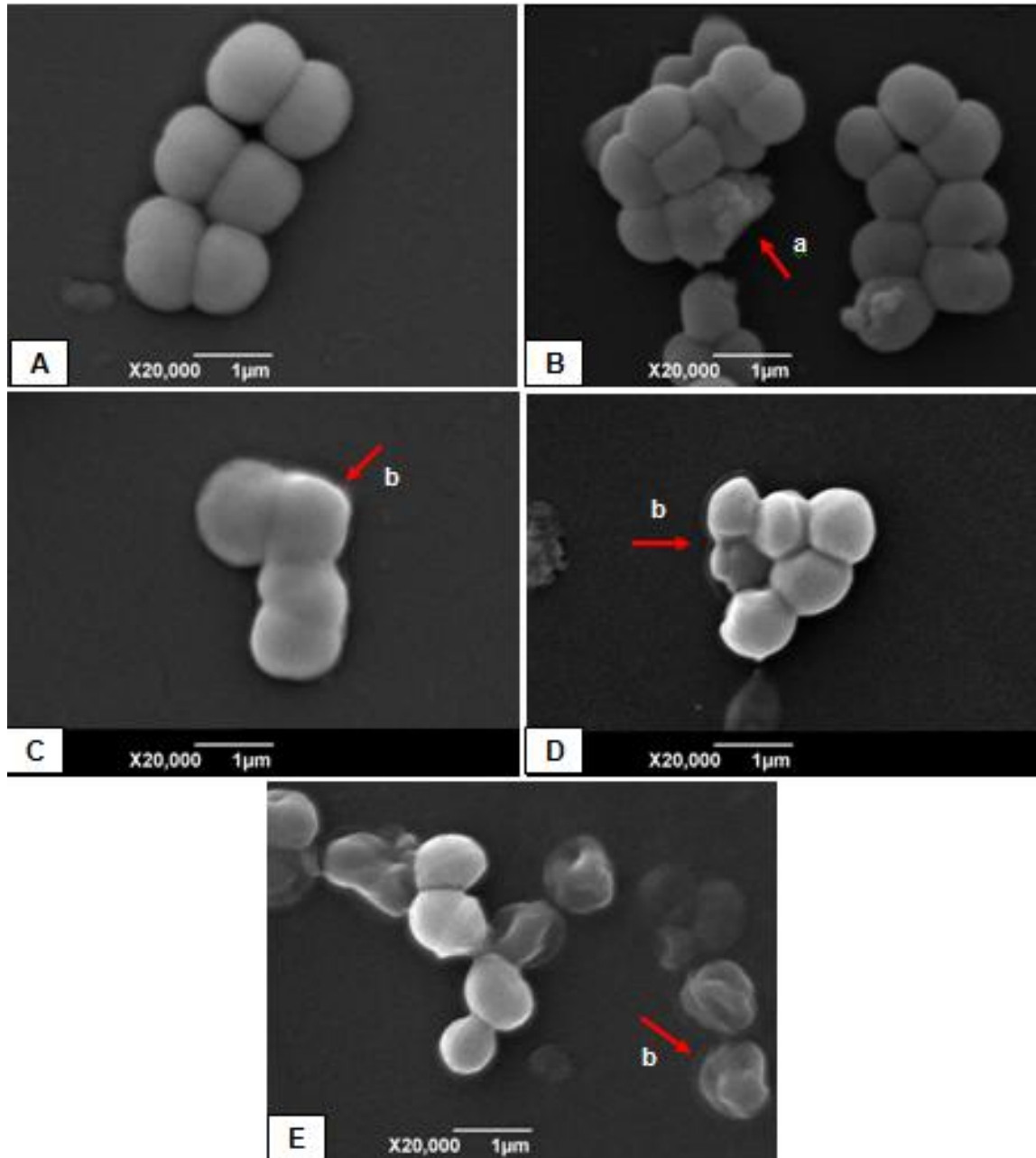


Figura 14 - Eletromicrografias de *Micrococcus luteus* ATCC 7468 expostos aos tratamentos experimentais. A) Não exposto ao óleo essencial de interesse, B) exposto ao cloranfenicol a 25 µg/mL, C) exposto a neomicina a 125 µg/mL, D) exposto ao triclosan a 62,5 µg/mL, E) tratamento com óleo essencial de *O. vulgare* a 2800 µg/mL. "a": anormalidades enrugadas indicando extravasamento celular, "b": células deformadas/aglomeradas/ compactadas. Magnitude: 20000x. As barras representam 1 µm.

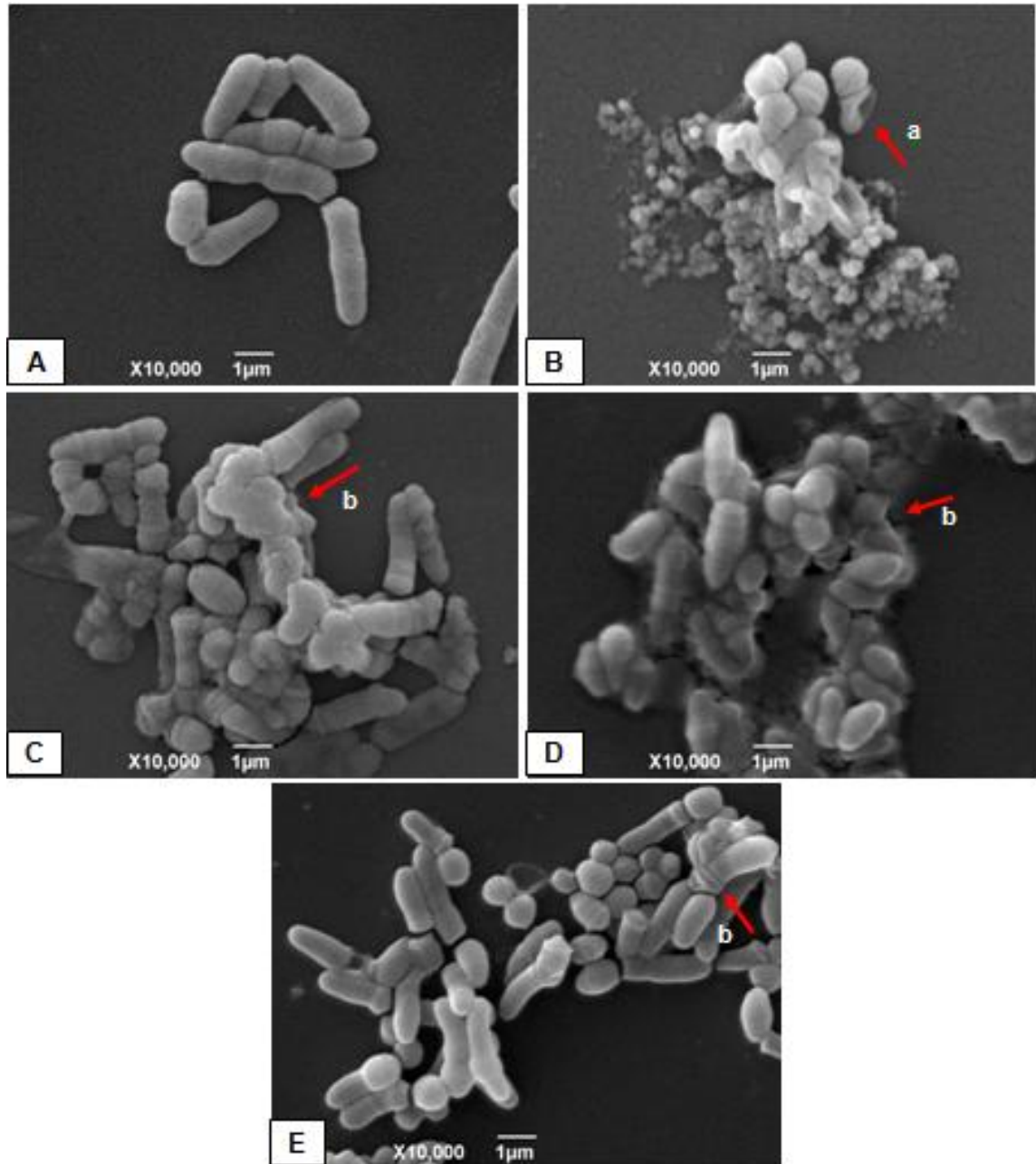


Figura 15 - Eletromicrografias de *Corynebacterium xerosis* IAL 105 expostos aos tratamentos experimentais. A) Não exposto ao óleo essencial de interesse, B) exposto ao cloranfenicol a 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$, C) exposto a neomicina a 1,25 $\mu\text{g}/\text{mL}$. D) exposto ao triclosan a 62,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, E) exposto ao óleo essencial de *O. vulgare* a 1400 $\mu\text{g}/\text{mL}$. “a”: rompimento e lise da membrana celular, “b”: células deformadas/aglomeradas. Magnitude: 10000x. As barras representam 1 μm .

5.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO DESODORANTE ANTITRANSPIRANTE

5.3.1 Triagem

A formulação desenvolvida, bem como o óleo essencial de orégano a 2% apresentaram atividade bactericida frente a todas as bactérias testadas.

Tabela 5 – Ação antimicrobiana do desodorante antitranspirante.

Amostras	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>P. vulgaris</i> ATCC 13315	<i>M. luteus</i> ATCC 7468	<i>C. xerosis</i> IAL 105
Desodorante antitranspirante	Bactericida	Bactericida	Bactericida	Bactericida
Óleo essencial de <i>O. vulgare</i> 2%	Bactericida	Bactericida	Bactericida	Bactericida

5.3.2 Microscopia eletrônica de varredura

Foram obtidas eletromicrografias das linhagens bacterianas de interesse expostas ao desodorante antitranspirante contendo 2% do óleo essencial de *O. vulgare* após 2 e 24 horas a aplicação da mesmo. Após 2 horas, as células já apresentaram superfície deformada com possível extravasamento celular, comprovando a ação antimicrobiana da formulação. Após 24 horas, as alterações morfológicas foram mais pronunciadas nas bactérias *S. epidermidis* ATCC 12228, *Proteus vulgaris* ATCC 13315 e *C. xerosis* IAL 105 quando comparadas às de 2 horas. A formulação foi capaz de provocar danos morfológicos nas estruturas das células tratadas após 2 e 24 horas a aplicação, com o aparecimento de anormalidades enrugadas, compactação das células levando a perda o formato original. As alterações observadas foram compatíveis com a morte celular bacteriana (Figura 16, 17, 18 e 19).

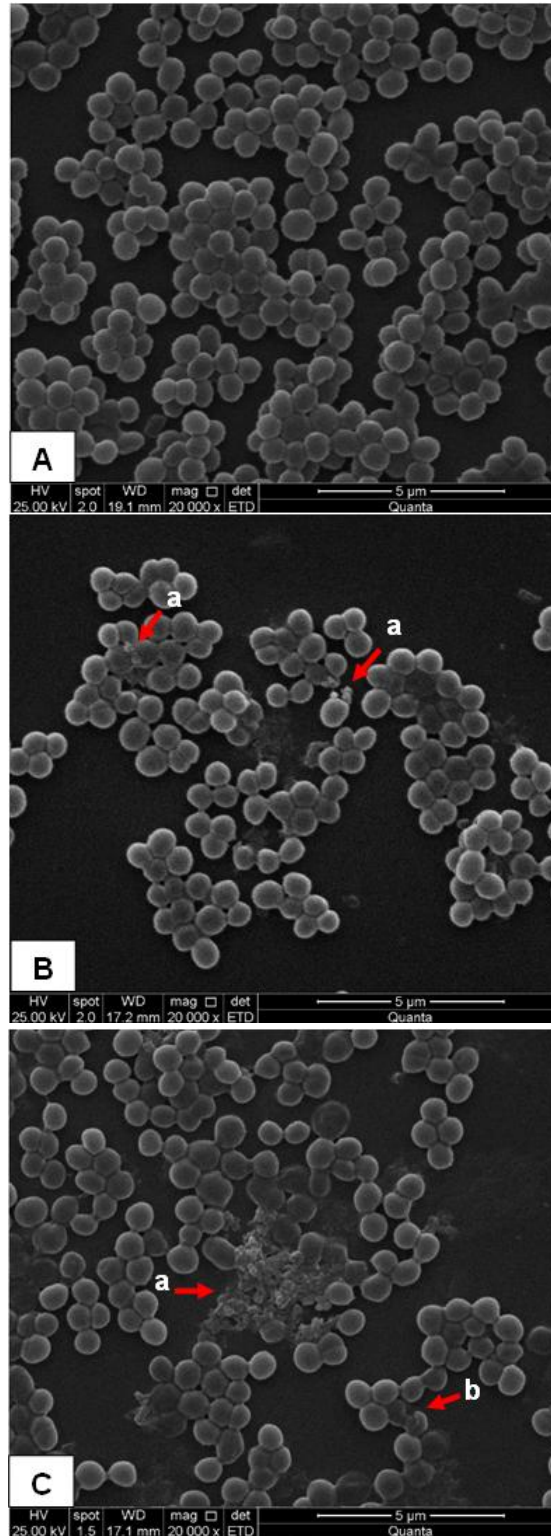


Figura 16 - Eletromicrografias de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 expostos ao desodorante antitranspirante. A) Não exposto ao desodorante antitranspirante, B) exposto ao desodorante antitranspirante durante 2 horas, C) exposto ao desodorante antitranspirante durante 24 horas. "a": rompimento e lise da membrana com provável extravasamento celular. "b": células menores e deformadas. Magnitude: 20000x. As barras representam 5 µm.

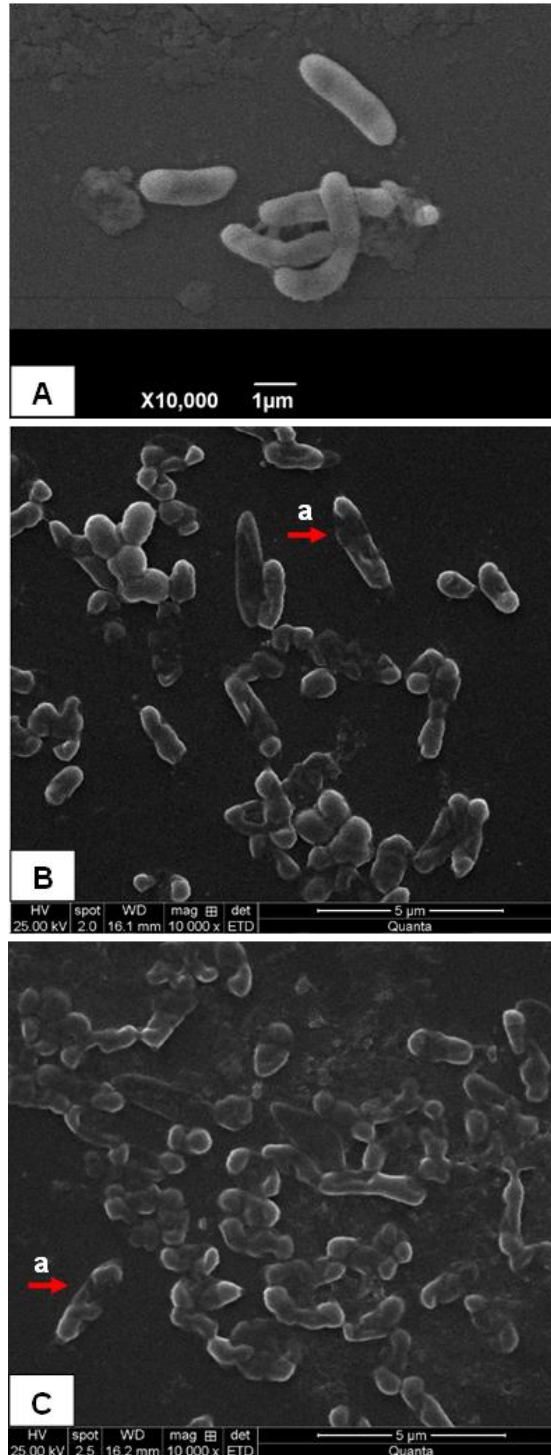


Figura 17 - Eletromicrografias de *Proteus vulgaris* ATCC 13315 expostos ao desodorante antitranspirante. A) Não exposto ao desodorante antitranspirante, B) exposto ao desodorante antitranspirante durante 2 horas, C) exposto ao desodorante antitranspirante durante 24 horas. "a": célula destruída com desintegração da membrana celular. Magnitude: 10000x. As barras representam 5 μ m.

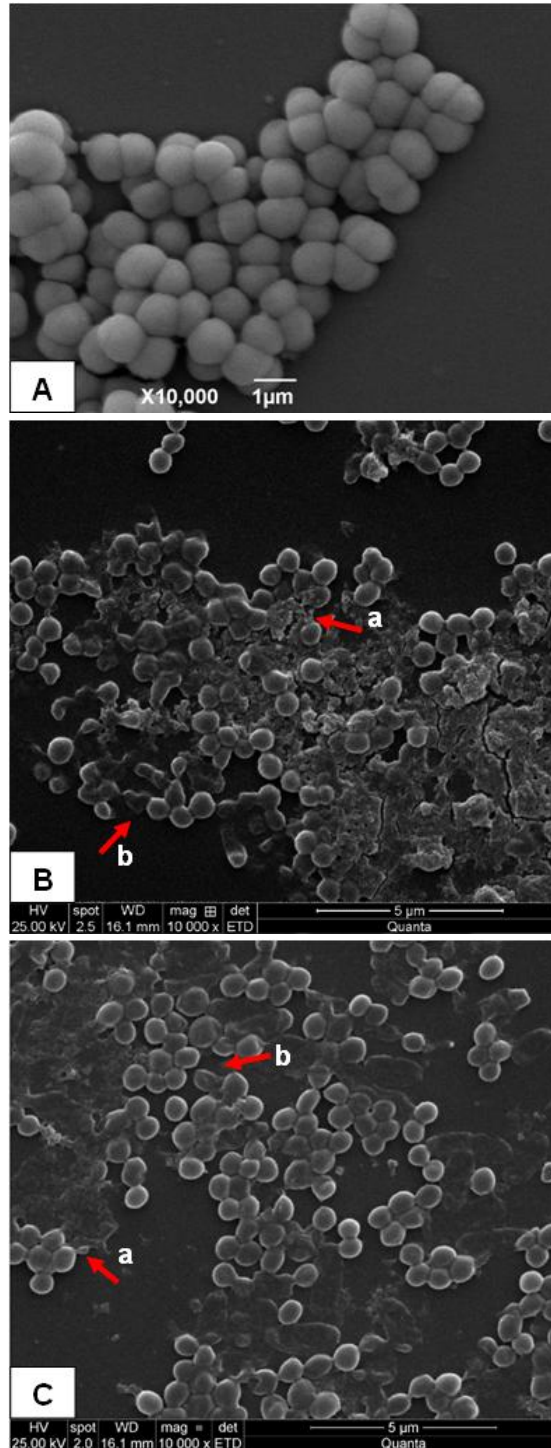


Figura 18 - Eletromicrografias de *Micrococcus luteus* ATCC 7468 expostos ao desodorante antitranspirante. A) Não exposto ao desodorante antitranspirante, B) exposto ao desodorante antitranspirante durante 2 horas, C) exposto ao desodorante antitranspirante durante 24 horas. "a": anormalidades enrugadas. "b": células deformadas/compactadas. Magnitude: 10000x. As barras representam 5 μm.

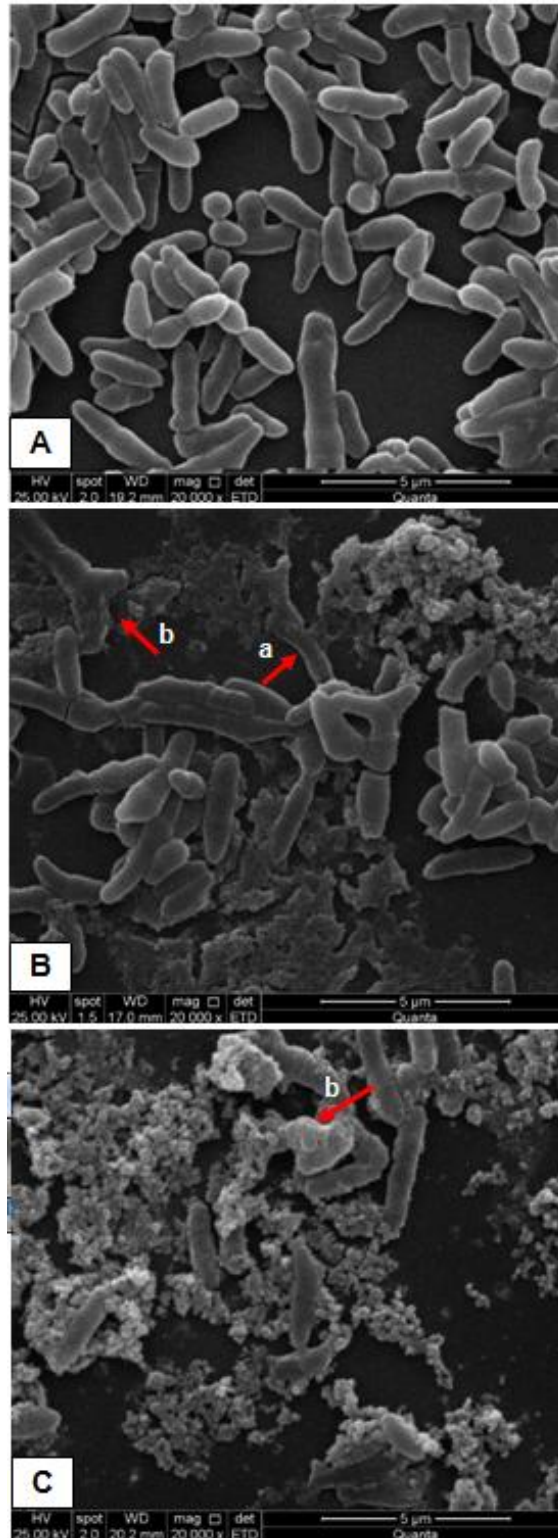


Figura 19 - Eletromicrografias de *Corynebacterium xerosis* IAL 105 expostos ao desodorante antitranspirante. A) Não exposto ao desodorante antitranspirante, B) exposto ao desodorante antitranspirante durante 2 horas, C) exposto ao desodorante antitranspirante durante 24 horas. "a": rompimento e lise da membrana celular. "b": células deformadas. Magnitude: 20000x. As barras representam 5 µm.

6 DISCUSSÃO

De acordo com Bakkali e colaboradores (2008), para um componente ser considerado majoritário, este deve apresentar-se em quantidade entre 20 e 70% dos constituintes totais. Através da análise cromatográfica obtida no presente estudo, o componente majoritário identificado no óleo essencial de *O. vulgare* foi o γ -terpineno (30,5%).

No entanto, os cinco componentes presentes em porcentagens maiores que 5%: γ -terpineno (30,5%), carvacrol (15,7%), terpinen-4-ol (13,0%), geraniol (7,1%) e *cis*-ocimeno (7,0%), perfazem um total de 73,3% da constituição química do óleo, podendo ser os responsáveis pela atividade biológica do mesmo.

Os constituintes encontrados no presente trabalho foram semelhantes aos obtidos no estudo de Azeredo e colaboradores (2011), os quais demonstraram que o carvacrol (66,9g/100g), *p*-cimeno (13,9g/100g) e γ -terpineno (7,8g/100g) foram os componentes majoritários do óleo essencial de orégano.

Várias espécies de orégano são caracterizadas pela presença de dois componentes fenólicos: o carvacrol e o timol e também elevado teor de seus precursores hidrocarbonetos monoterpênicos: γ -terpineno e *p*-cimeno (BENAVIDES; VILLALOBOS-CARVAJAL; REYES, 2012; BOSTANCIOĞLU et al., 2012; BUSATTA et al., 2007; CASTILHO et al., 2012; LUZ et al., 2012; MOHAMED; NASSIER, 2013).

No presente estudo, foi identificada a presença de todos os componentes supracitados, com excessão do timol. No entanto, esse constituinte pode estar incluído na porcentagem não detectada no ensaio de cromatografia gasosa realizado, uma vez que picos menores de 0,1% não foram considerados no estudo (equivalente a 8,4% da composição total do óleo).

De acordo com Rodrigues (2002), a proporção de timol e γ -terpineno no óleo essencial de *O. vulgare* varia durante os meses de florescimento e não florescimento da planta, sendo que o aumento no conteúdo de um dos constituintes é acompanhado de diminuição do outro e vice-versa. Esse mesmo autor ainda afirma que esses fatores não interferem no conteúdo dos outros dois principais compostos: carvacrol e *p*-cimeno.

A diferença sazonal também pode interferir na composição química do óleo essencial, como demonstrado no estudo de Karamanos e Sotiropoulou (2013), os

quais encontraram uma diferença quantitativa nos constituintes encontrados no óleo essencial de *O. vulgare*. O carvacrol, composto dominante, variou de 56,46% a 84,88%, seguido do *p*-cimeno (4,19 - 21,4%) e α -pineno (0,11 - 1,88%). Enquanto o timol foi detectado em níveis muito baixos variando de 0,20% a 1,44%. Foi concluído que o teor de carvacrol foi maior na estação mais seca e mais quente, enquanto outros compostos (α -pineno, canfeno, mirceno, α - e γ -terpineno, *p*-cimeno, linalol, α -terpineol, α -cariofileno) tenderam a apresentar níveis mais elevados durante o período mais úmido e mais frio. Tibaldi e colaboradores (2011) também afirmam que a quantidade de carvacrol é muito maior no verão, enquanto o *p*-cimeno predomina no outono.

No estudo de Silva e colaboradores (2010), foram pesquisados cinco óleos essenciais de orégano provenientes de diferentes regiões da Europa em diferentes épocas do ano e foi constatada uma grande variação no teor dos constituintes químicos presentes nesses óleos. De acordo com esse estudo, não houve diferença significativa na atividade antimicrobiana frente à *Salmonella enterica* sorotipo Enteritidis. Porém, esses autores afirmam que óleos essenciais de orégano que possuem *p*-cimeno, γ -terpineno e carvacrol podem ter o seu efeito antimicrobiano potencializado frente a essa bactéria (SILVA et al., 2010). Dessa forma, pode-se dizer que as diferenças entre os componentes encontrados em cada estudo podem ser resultado das variações fisiológicas da planta, fatores genéticos, local geográfico da coleta, clima e outros fatores ecológicos que podem interferir na composição química do óleo essencial (KHOSRAVI et al., 2011; SOUZA et al., 2010).

O óleo essencial de *O. vulgare* é conhecido por possuir atividade antimicrobiana frente à várias espécies de micro-organismos, principalmente as patogênicas e aquelas relacionadas a deterioração de alimentos (BOSTANCIOĞLU et al., 2012; CASTILHO et al., 2012; LUZ et al., 2012). No entanto, o presente estudo demonstrou que esse composto natural também pode ser utilizado como agente antibacteriano em produtos de higiene pessoal, como desodorantes, já que existe uma tendência do uso crescente de ingredientes alimentícios em produtos cosméticos, como o cacau, frutas, óleos de polpa e sementes, entre outros (LUBBE; VERPOORTE, 2011).

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, o óleo essencial de *O. vulgare* demonstrou atividade bactericida frente ao *P. vulgaris* (CIM=1400 μ g/mL), *M. luteus* (CIM=2800 μ g/mL) e *C. xerosis* (CIM=1400 μ g/mL) e atividade bacteriostática

frente ao *S. epidermidis* (CIM=2800 µg/mL). Vários estudos também comprovam a atividade antimicrobiana frente a estas bactérias. Baydar e colaboradores (2004) analisaram a propriedade antibacteriana do óleo essencial de orégano frente 15 bactérias, dentre elas o *C. xerosis*, o *M. luteus* e o *P. vulgaris* e observaram que na concentração de 1/50 (v/v), tal óleo foi eficaz na inibição somente das duas primeiras linhagens bacterianas. Enquanto o *P. vulgaris* teve seu crescimento inibido na concentração de 1/200 (v/v). Esses autores afirmam que a atividade do óleo pode ser atribuída à presença do carvacrol, *p*-cimeno e γ -terpineno. Neste estudo foi utilizado o método de difusão em disco.

No estudo de Sartoratto e colaboradores (2004), o valor de CIM encontrado para o *M. luteus* CCT2692 foi maior que 2 mg/mL e não foi evidenciada atividade antimicrobiana do óleo de orégano frente ao *S. epidermidis* ATCC12228. Os componentes majoritários encontrados foram o timol (38%) e o terpin-4-ol (33,3%), não sendo encontrado o carvacrol. Sahin e colaboradores (2004) também não encontraram atividade frente ao *S. epidermidis* A233. No entanto, o óleo essencial apresentou atividade antibacteriana frente ao *P. vulgaris* Kukem-1329 com valor de CIM=62,50 µg/mL.

Por outro lado, Silva e colaboradores (2013) verificaram que o óleo de orégano foi ativo frente ao *S. epidermidis* ATCC 12228 na concentração de 5% (v/v), valor superior a CIM encontrada no presente estudo correspondente a 0,32% (v/v). Os autores justificam a atividade devido ao alto teor de compostos fenólicos presentes no óleo, como o carvacrol e o timol.

Nostro e colaboradores (2004) evidenciaram sensibilidade de cepas de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* meticilina resistentes ao óleo essencial de orégano com CIMs variando entre 0,06 e 0,125% (v/v). Esse óleo essencial foi caracterizado quimicamente e foi detectada a presença dos constituintes carvacrol, timol, γ -terpineno e *p*-cimeno. No entanto, para esses autores não há relação entre a atividade antimicrobiana e os dois últimos constituintes citados. Contraditoriamente, Silva e colaboradores (2010) afirmam que esses constituintes (γ -terpineno e *p*-cimeno) interferem na atividade antimicrobiana, por produzirem efeito sinérgico entre os demais componentes. No presente estudo, o óleo essencial de orégano demonstrou atividade antimicrobiana frente ao *S. epidermidis* e o γ -terpineno foi identificado como componente majoritário do mesmo. Logo, a atividade encontrada possivelmente se deve também à presença desse

constituente uma vez que se encontra em maior quantidade que as demais substâncias.

Em uma pesquisa realizada com o óleo essencial de orégano coletado em quatro regiões distintas da Ilha da Madeira foi visto que apesar de as amostras apresentarem os mesmos constituintes, algumas diferenças quantitativas foram observadas. Em uma região o γ -terpineno foi o componente presente em maior quantidade (20,49%), enquanto que nas outras, o timol foi o componente que prevaleceu com concentrações variando de 30,96% a 58,0%. Paralelamente, foi realizada a atividade antimicrobiana dos óleos e não foram observadas grandes diferenças entre os resultados. Entre os micro-organismos testados encontra-se o *M. luteus* CCMI 322 que foi inibido por todas as quatro amostras, sendo que duas apresentaram atividade bactericida (CIM=100 $\mu\text{g/mL}$) e as outras demonstraram atividade bacteriostática com valores de CIM variando entre 100 e 200 $\mu\text{g/mL}$ (CASTILHO et al., 2012).

Segundo Chen e colaboradores (2011), a ação antimicrobiana provocada pelos óleos essenciais, de maneira geral, é justificada pela sua capacidade de perturbar a permeabilidade das membranas de estruturas celulares com a perda concomitante do controle quimiosmótico. Dessa forma, eles relataram que as bactérias Gram-positivas são mais sensíveis aos óleos essenciais que bactérias Gram-negativas, pois estas apresentam uma membrana exterior em torno da parede da célula, o que limita a difusão de compostos hidrofóbicos através da sua cobertura lipopolissacarídica. No entanto, no presente estudo não foi constatada essa diferença, uma vez que o óleo de interesse apresentou atividade bactericida nas concentrações testadas para todas as bactérias Gram-negativa e positivas, exceto para o *S. epidermidis* (bactéria Gram-positiva).

Liolios e colaboradores (2009) afirmam que a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais pode ser atribuída aos monoterpenos, que devido ao seu carácter lipofílico, agem na perturbação da membrana citoplasmática microbiana. O rompimento da membrana citoplasmática provocada pelos óleos essenciais resulta em expansão, aumento da permeabilidade e fluidez da membrana, perturbação das proteínas integradas à membrana, inibição da respiração e alteração do processo de transporte iônico. Os constituintes do óleo também podem atravessar as membranas celulares, penetrando na célula e interagindo com sítios intracelulares críticos para a atividade antibacteriana (SADAKA et al., 2013).

Segundo Lambert e colaboradores (2001), o mecanismo de ação da atividade antimicrobiana do óleo essencial também pode ser atribuído à disfunção de uma variedade de sistemas enzimáticos, incluindo aqueles que estão envolvidos na produção de energia e da síntese de componentes estruturais.

Castilho e colaboradores (2012) sugerem que, ao contrário de muitos antibióticos, os constituintes hidrofóbicos presentes nos óleos essenciais provenientes do gênero *Origanum* são capazes de obter acesso ao periplasma de bactérias Gram-negativas por meio das proteínas porinas da membrana externa. De acordo com Negi (2012); Silva e colaboradores (2010), o carvacrol provavelmente age tornando a membrana celular bacteriana permeável, pela dissolução da bicamada lipídica e por se alinhar entre as cadeias de ácidos graxos. Esta distorção provoca a expansão e a desestabilização da membrana, aumentando a fluidez da mesma e, conseqüentemente, aumentando a permeabilidade passiva. Já o *p*-cimeno, precursor do carvacrol, provoca um maior inchaço da membrana citoplasmática e o γ -terpineno age rompendo a membrana celular (AZEREDO et al., 2011; LANGEVELD; VELDHUIZEN; BURT, 2013).

Além dos componentes majoritários, os demais constituintes podem influenciar na atividade antimicrobiana do óleo, podendo envolver algum tipo de sinergismo ou antagonismo com outros compostos ativos. Assim sendo, provavelmente a atividade antibacteriana não é atribuível a um mecanismo específico e sim ao conjunto de vários danos nas células. Alguns destes mecanismos ocorrem como conseqüência de um outro mecanismo alvo. Como exemplo, os compostos sesquiterpênicos podem agir como potenciadores clinicamente aceitáveis de penetração na pele. Esta penetração é principalmente importante para os componentes bioativos, que dependem de absorção através da pele (CHEN et al., 2011; SADAKA et al., 2013; SOUSA et al., 2012).

O modo de ação dos agentes antimicrobianos também depende essencialmente do tipo de micro-organismo e está relacionada principalmente com a estrutura da parede celular bacteriana e do arranjo da membrana externa. A lipofilicidade dos constituintes do óleo, composição lipídica da membrana bacteriana e suas cargas de superfície são os principais fatores que influenciam a permeabilidade da membrana aos constituintes do óleo (SADAKA et al., 2013).

No presente trabalho também foi testada a atividade antimicrobiana do triclosan sendo encontrada atividade bactericida para todas as bactérias testadas

com valores de CIM variando entre 0,97 e 62,5 µg/mL. Adicionalmente, foi encontrada atividade bacteriostática frente a *S. epidermidis* (CIM=0,48 µg/mL), *M. luteus* (CIM=1,95 µg/mL) e *C. xerosis* (CIM=7,81 µg/mL). Tais valores de CIM encontrados para o triclosan estão abaixo da concentração máxima de 0,3% permitida pela ANVISA em produtos de higiene pessoal.

Os resultados apresentados corroboram com o estudo de Middleton e Salierno (2013) que afirmam que o triclosan tem propriedade bactericida em altas concentrações e bacteriostática em menores concentrações (0,025 – 1 mg/mL). De acordo com Wollenberg e Schnopp (2010), o triclosan é um antibacteriano potente frente às espécies do gênero *Proteus* spp. Bhargava e Leonard (1996) sugerem que desodorantes tópicos contendo 0,15% de triclosan possuem um efeito prolongado na redução do crescimento de bactérias axilares e exibem efeito sinérgico com outros agentes antimicrobianos como o etanol a 39%. Foi demonstrada atividade antibacteriana frente *P. vulgaris* NCTC 8313 (CIM=0,1 ppm), *P. vulgaris* NCTC 4636 (CIM=0,3 ppm) e *P. vulgaris* NCTC 4175 (CIM=0,01 ppm).

Morente e colaboradores (2013) justificam os efeitos destrutivos do triclosan sobre a estrutura e a função da membrana bacteriana como consequência da sua inibição específica da via de biossíntese de ácido graxos, afetando processos dependentes da síntese de lípidios, tais como a síntese de lipopolissacarídeos, fosfolípidos e lipoproteína, que são constituintes da parede celular. Segundo Hoq e Ibrahim (2011) e Proia e colaboradores (2013), o triclosan age como um inibidor irreversível da enzima enoil – proteína carreadora de acila redutase (FabI). Essa enzima utiliza o NADH para reduzir a dupla ligação durante o ciclo de alongamento de ácidos graxos bacterianos. A ligação de triclosan se deve principalmente a interações de van der Waals e ligações de hidrogênio entre o grupo fenol da molécula de triclosan e resíduos de aminoácidos do sítio ativo da enzima FabI (MELO, 2010).

Tkachenko e colaboradores (2007) sugerem que outros fatores também podem contribuir para atividade bactericida do triclosan, como a modificação da função e estrutura da membrana celular, inserindo-se na membrana bacteriana, rompendo sua integridade ou afetando a expressão de genes envolvidos no metabolismo de ácidos graxos.

Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que o óleo essencial de *O. vulgare* obteve valores de CIM maiores que o triclosan, bem como os

fármacos de referência. No entanto, os valores encontrados são aceitáveis para o desenvolvimento de um produto de higiene pessoal, uma vez que estamos lidando com uma mistura de compostos e não com uma substância pura. Adicionalmente, a utilização do óleo essencial de *O. vulgare* como ativo antimicrobiano encontrado na formulação desenvolvida supre o anseio de consumo devido ao mercado verde, visto o impacto ambiental e os casos de resistência relacionados ao triclosan.

Conforme preconizado pelas Farmacopeias Brasileira 5ª ed. e Americana 22ª ed., foram utilizados a neomicina e o cloranfenicol como fármacos de referência para o ensaio antimicrobiano realizado. No entanto, sabe-se que não é recomendado o uso de antibióticos em desodorantes enquanto houver outras substâncias ativas e de menor risco tóxico. Embora a neomicina a 3% já ter sido incorporada em creme com a comprovação da supressão do odor sudoral das axilas, substâncias desse tipo estão incluídas em listas de uso proibido em produtos cosméticos, sendo reservadas exclusivamente para sua função principal terapêutica (BARATA, 2003).

A neomicina é um aminoglicosídeo amplamente utilizado em forma tópica, é bactericida frente a maior parte das bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. Sua atividade bactericida se deve a ligação à subunidade 30s do ribossoma bacteriano, inibindo assim a síntese proteica (CUI et al., 2009; LIO; KAYE, 2011; PORRAS-LUQUE, 2007). Já o cloranfenicol é um antimicrobiano de amplo espectro que também inibe a síntese proteica. Sua ação principal se deve a ligação à fração 50s do ribossoma bacteriano, inibindo a enzima peptidil-transferase, bloqueando a união dos aminoácidos na formação do polipeptídeo (PAES et al., 2009).

Através da microscopia eletrônica de varredura, foi possível observar as diferenças morfológicas encontradas na superfície das bactérias expostas aos tratamentos experimentais (óleo essencial de *O. vulgare*, triclosan, cloranfenicol e neomicina) com as controle (sem exposição às substâncias de interesse). Foi observado que apesar de o óleo essencial ter efeito bacteriostático frente ao *S. epidermidis*, podem-se evidenciar alterações morfológicas discretas na bactéria.

As eletromicrografias sugerem que o óleo essencial de orégano causou alterações morfológicas similares frente ao *P. vulgaris* e ao *M. luteus* comparado com o triclosan. Os resultados indicam que esses danos são compatíveis com a morte celular, uma vez que foi utilizada a concentração bactericida mínima no tratamento das bactérias.

Já o *C. xerosis* IAL 105 tratado com o óleo de interesse apresentou alterações morfológicas discretas. Porém, de acordo com a concentração de óleo utilizada, as células seriam passíveis de morte celular mesmo sem evidenciar grandes danos na membrana celular.

Foram encontrados alguns estudos que empregaram o MEV como um dos ensaios que comprovasse o efeito antibacteriano do óleo essencial de *O. vulgare* frente a diversas bactérias (*S. aureus* ATCC 6538, *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 8739, *S. aureus* QCF e *L. monocytogenes* ATCC 7644) indicando alteração na superfície celular (AZEREDO et al., 2012; LV et al., 2011; SOUZA et al., 2010). No entanto, não foram encontradas essas análises com os micro-organismos do presente estudo.

Segundo Azeredo e colaboradores (2012), as modificações provocadas pelo óleo essencial de *O. vulgare* na parede celular e/ou membrana plasmática das bactérias ocorrem devido ao caráter lipofílico do óleo essencial, o qual pode acumular na membrana celular, causando alteração da integridade e o extravasamento de constituintes intracelulares que são vitais para a sobrevivência da bactéria. Esses autores observaram que a ruptura da parede celular da bactéria *L. monocytogenes* ocorreu perto do septo de divisão celular, indicando que a atividade do óleo essencial foi maior na mitose. Contudo, Langeveld, Veldhuizen e Burt (2013) sugerem que o mecanismo de ação do óleo essencial de orégano ocorre por via enzimática através da inibição da atividade da lipase e da coagulase bacteriana. Através das eletromicrografias obtidas no presente trabalho, não se pode sugerir um possível mecanismo de ação. No entanto, pode-se observar que o óleo de interesse provocou o comprometimento da integridade da membrana celular bacteriana.

No desenvolvimento da formulação, obteve-se um desodorante antitranspirante líquido de aspecto límpido, levemente amarelado e com odor picante. A concentração de óleo optada para o desenvolvimento do desodorante antitranspirante foi superior ao maior valor de CIM encontrado (0,28% p/v). Essa porcentagem utilizada no produto pode ser justificada pela possível perda de quantidade do ativo durante e após a aplicação tópica nas axilas (presença do suor, evaporação do álcool juntamente com o ativo, atrito entre a pele e a roupa), bem como a garantia de que o ativo atue sobre as bactérias de interesse (presença de células epiteliais que podem dificultar esse alcance).

Através da avaliação da atividade antimicrobiana, pode-se verificar que o desodorante antitranspirante contendo 2% (p/v) de óleo essencial de orégano foi bactericida frente a todas as bactérias testadas. A atividade bactericida observada ocorreu devido à porcentagem de óleo utilizada na formulação, sendo que foi feita a análise da atividade do óleo essencial a 2% isoladamente e foi comprovada sua ação bactericida. Porém, a presença de outros componentes na formulação, como o álcool de cereais, pode ter contribuído para a ação antimicrobiana.

A associação entre o óleo essencial e os demais componentes da formulação pode ter contribuído para as alterações celulares visualizadas pelo MEV, visto que estes também possuem efeito antimicrobiano. De acordo com Barata (2003), o propilenoglicol e a glicerina além de solubilizar princípios ativos, são substâncias que também possuem atividade antisséptica, transmitindo sensação de frescor e permitindo a ideia de higiene e bem estar.

Através das eletromicrografias obtidas pelo MEV, pode-se comprovar os efeitos destrutivos do desodorante antitranspirante contendo óleo essencial de *O. vulgare* frente as bactérias testadas. Após 2 horas da aplicação do produto, já foi possível observar a ação antimicrobiana através das alterações na morfologia da membrana das bactérias com provável extravasamento celular. Dentre todas as bactérias tratadas, o *S. epidermidis* demonstrou visivelmente menos alterações, provavelmente pela maior resistência ao óleo, uma vez que foi o único micro-organismo em que o óleo essencial foi bacteriostático na concentração de 2800 µg/mL. Após 24 horas, o efeito bactericida do desodorante antitranspirante foi visivelmente mais exacerbado para a maioria das bactérias (maior quantidade de bactérias deformadas com aspecto enrugado e indícios de extravasamento celular), devido provavelmente ao maior tempo de contato do produto com as mesmas. Desse modo, o efeito do desodorante possivelmente prolonga 24 horas após a aplicação.

Vale ressaltar que dentre todos os constituintes químicos identificados no óleo em estudo, somente o geraniol (7,1%) está presente na lista das 26 fragrâncias alergênicas para cosméticos e produtos de limpeza. Esse constituinte é considerado um alergênico médio. Na formulação desenvolvida, sua presença representa 0,142%, excedendo o valor de 0,001% descrito pelo Ministério da Saúde. Dessa forma, há a necessidade da descrição desse constituinte na rotulagem do produto de

modo a facilitar a identificação desta substância pelos consumidores que não a toleram.

O geraniol é um álcool monoterpênico acíclico considerado uma das moléculas mais importantes utilizadas na indústria de fragrâncias e aromas devido ao seu odor agradável. Além disso, possui propriedades antimicrobiana, antitumoral e inseticida comprovadas. Um levantamento de produtos de consumo no mercado europeu revelou que ele está presente em 76% dos desodorantes investigados, incluído em 41% dos produtos de uso doméstico e em 33% das formulações cosméticas à base de ingredientes naturais (CHEN; VILJOEN, 2010).

Acredita-se que a sensibilização de contato é causada por compostos de baixo peso molecular, que penetram na pele e se ligam a proteínas. Hagvall e colaboradores (2008) relataram que o geraniol tem poder de auto-oxidação quando exposto ao ar ou quando ocorre ativação metabólica mediada por citocromo P450 na pele, formando compostos alergênicos. Os principais produtos de auto-oxidação alergênicos descritos foram o geranial e o neral.

No entanto, foi comprovado que o geraniol a 6% em petrolatum não produziu reação de sensibilização quando testado em 25 voluntários e também não demonstrou efeitos adversos em ratos quando ingerido nas concentrações de 10000 ppm por 16 semanas ou de 1000 ppm por 28 semanas (CHEN; VILJOEN, 2010).

Segundo o estudo de Varvaresou e colaboradores (2009), os óleos essenciais como conservantes naturais são rentáveis e em alguns casos podem melhorar as propriedades dermocosméticas do produto final. Todavia, sua aplicação como agentes antimicrobianos em preparações cosméticas é muitas vezes evitada por alguns inconvenientes, como atuarem em organismos específicos, diferentemente dos conservantes sintéticos o que pode ser ineficaz ao proteger o produto contra a grande variedade de micro-organismos que podem degradar um produto cosmético. Além disso, em alguns casos, eles causam alergias dermatológicas.

Considerando essas informações, o óleo essencial de orégano já foi relatado como inibidor de crescimento de uma ampla variedade de micro-organismos o que sugere o possível efeito secundário em atuar como coadjuvante na conservação da formulação, prevenindo e controlando o crescimento de micro-organismos contaminantes durante a produção, o armazenamento ou o uso do consumidor. O aumento na permeabilidade da membrana celular e subsequente facilitação da

captação bacteriana de conservantes pode ser o mecanismo subjacente dos efeitos sinérgicos entre alguns óleos essenciais e conservantes (PATRONE et al., 2010).

Segundo a Farmacopéia Brasileira 5ª ed., para assegurar a eficácia de conservantes antimicrobianos adicionados aos produtos farmacêuticos, deve-se realizar o teste de eficácia antimicrobiana frente aos micro-organismos *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Assim sendo, existem relatos na literatura científica sobre o efeito antimicrobiano do óleo essencial de orégano frente a todos esses micro-organismos, o que sugere a possibilidade de sinergismo ou a substituição ao conservante da formulação, evitando o uso de conservantes sintéticos como os parabenos (GIROVA et al., 2010; LAUBACH; GHANAVATI; WHIDDEN; 2012; SOUZA et al., 2008; VALE-SILVA et al., 2012).

Schuch (2011) realizou os ensaios de toxicidade dérmica e ocular em animais expostos ao óleo essencial de orégano a 3%. Este foi considerado não irritante para a pele e minimamente irritante para os olhos, não havendo sinais graves de toxicidade o que corrobora com o desenvolvimento de uma formulação de uso tópico. No presente trabalho, a formulação foi desenvolvida utilizando o óleo essencial a 2%, valor inferior ao testado no estudo anteriormente citado, o que pressupõe que não provoque irritações na pele.

O cloridróxido de alumínio está presente com o propósito de reduzir a transpiração. Porém, também possui atividade adstringente, cujo objetivo é reduzir o tamanho dos poros e indiretamente a oleosidade da pele, propriedade atrativa para quem tem pele oleosa (FROTA, 2012).

A formulação desenvolvida no presente trabalho possui 2% de cloridróxido de alumínio e segue as restrições estabelecidas pela ANVISA conforme a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 03, de 20 de janeiro de 2012, em que autoriza a concentração máxima de 25% base anidra de cloridróxido de alumínio no produto final de antitranspirantes. Porém, as condições de uso e advertências deverão constar no rótulo do produto: não aplicar sobre a pele irritada ou lesionada, suspender o uso em caso de irritação.

Nos últimos anos o Brasil tem redobrado os esforços para enfrentar os desafios do desenvolvimento em um ambiente de competição internacional, cujas dificuldades têm sido encontradas nos terrenos da competência científica e da

inovação tecnológica e, mais precisamente, da capacidade de transformar conhecimentos em processos e produtos industriais valorizados pelos mercados nacional e internacional (MIGUEL, 2009).

Através da confirmação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *O. vulgare* frente aos principais micro-organismos causadores de mau odor axilar, o presente trabalho vislumbrou contribuir com o conhecimento técnico-científico, imprescindível para o desenvolvimento de um produto inovador. A comprovação da possível utilização do óleo essencial de *O. vulgare* em deodorantes favorece a indústria de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos, que caracteriza-se pela necessidade contínua de pesquisas de novos insumos e introdução de inovações em suas linhas de produtos. A utilização de um ativo natural antimicrobiano como alternativa ao triclosan, ainda atende as necessidades do mercado verde, sendo um fator de extrema relevância para a competitividade no setor.

Conforme a RDC nº 211, de 14 de julho de 2005, para a obtenção do registro de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes ainda são necessários testes físico-químicos que incluem dados de estabilidade e testes de controle microbiológico do produto acabado. Além disso é necessária a comprovação da segurança do produto, através de ensaios de toxicidade e avaliação em seres humanos sob os cuidados de um dermatologista.

7 CONCLUSÃO

O perfil químico do óleo essencial de *Origanum vulgare* apresentou 17 constituintes principais e o componente majoritário identificado foi o γ -terpineno (30,5%).

O óleo essencial de *O. vulgare* demonstrou atividade antimicrobiana frente todas as bactérias testadas, com ação bactericida frente ao *P. vulgaris* (CIM=1400 $\mu\text{g/mL}$), ao *M. luteus* (CIM=2800 $\mu\text{g/mL}$) e ao *C. xerosis* (CIM=1400 $\mu\text{g/mL}$) e ação bacteriostática frente ao *S. epidermidis* (CIM=2800 $\mu\text{g/mL}$). O desodorante antitranspirante contendo 2% do óleo de interesse demonstrou ser bactericida frente a todas bactérias testadas.

As eletromicrografias das bactérias expostas ao óleo essencial de orégano, ao desodorante antitranspirante, ao triclosan e os fármacos de referência demonstraram alterações nas estruturas morfológicas da membrana celular bacteriana, sugestivas de perda de viabilidade celular.

O desenvolvimento do desodorante antitranspirante contendo somente o óleo essencial de *O. vulgare* como ativo natural antimicrobiano, confere uma alternativa ao uso do triclosan. A comprovação da possível utilização desse ativo em desodorantes favorece a indústria de higiene pessoal e atende as necessidades do mercado verde, conferindo ao produto maior valor agregado.

Para a obtenção do registro do produto e posterior comercialização do produto acabado, são necessários ainda testes físico-químicos e *in vivo* compatíveis com as exigências regulatórias de cada país e/ou continente.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, Robert P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Mass Spectrometry. 4 ed. Illinois: Allured Business Media, 2009. 804p.
- ABIHPEC. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE HIGIENE PESSOAL, PERFUMARIA E COSMÉTICOS. Panorama do setor. **2012**. Disponível em: <<http://www.abihpec.org.br>>. Acesso em: 4 ago. 2012
- ANTIGNAC, E.; NOHYNEK, G. J.; RE, T.; CLOUZEAU, J.; TOUTAIN, H. Safety of botanical ingredients in personal care products/cosmetics. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, p. 324 – 341, 2011.
- ARRIBAS, M.P.; SORO, P.; SILVESTRE, J.F. Allergic Contact Dermatitis to Fragrances: Part 2. **Actas Dermosifiliográficas**, v. 104, n. 1, p. 29 – 37, 2013.
- ARSLAN, U.; ILHAN, K.; KARABULUT, O. A. Evaluation of the Use of Ammonium Bicarbonate and Oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) Extract on the Control of Apple Scab. **Journal of Phytopathology**, v. 161, n. 6, p. 382 – 388, 2013.
- AZEVEDO, C. B. Exercício físico e hidratação: uma revisão bibliográfica. 2008. 48 f. Monografia (Educação Física) - Universidade do Estado de Santa Catarina, 2008.
- AZEREDO, G. A.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q.; SOUZA, E. L.; MONTENEGRO, T. L. Stamford changes in *Listeria monocytogenes* induced by *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. Essential oils alone and combined at subinhibitory amounts. **Journal of Food Safety**, v. 32, p. 226 – 235, 2012.
- AZERÊDO, G.A.; STAMFORD, T.L.M.; NUNES, P.C.N.; GOMES-NETO, N.J.; OLIVEIRA, M.E.G.; SOUZA, E.L. Combined application of essential oils from *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. to inhibit bacteria and autochthonous microflora associated with minimally processed vegetables. **Food Research International**. v. 44, p. 1541 – 1558, 2011.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D; IDAOMAR, M. Biological effects of 292 essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446 – 475, 2008.
- BARATA, Eduardo A. F. **Cosmetologia: principios básicos**. 1. ed. São Paulo: Tecnopress, 2003. 176 p.
- BARANAUSKIENÉ, R.; VENSKUTONISA, P. R.; DAMBRAUSKIENÉ, E.; VISKELIS, P. Harvesting time influences the yield and oil composition of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* and ssp. *hirtum*. **Industrial Crops and Products**. v. 49, p. 43 – 51, 2013.
- BAO, L.; DENG, L.; NIE, L.; YAO, S.; WEI, W. A rapid method for determination of *Proteus vulgaris* with a piezoelectric quartz crystal sensor coated with a thin liquid film. **Biosensors & Bioelectronics**. v. 11, n. 12, p. 1193 – 1198, 1996.

- BAYDAR, H.; SAGDIÇ, O.; OZKAN, G.; KARADOGAN, T. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*, v.15, n.3, p.169 – 172, 2004.
- BENAVIDES, S.; VILLALOBOS-CARVAJAL, R.; REYES, J. E. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. *Journal of Food Engineering*, v. 110, p. 232 – 239, 2012.
- BENOHANIAN, A. Antiperspirants and Deodorants. *Clinics in Dermatology*, v.19, p. 398 – 405, 2001.
- BHARGAVA, H. N.; LEONARD, P. A. Triclosan: Applications and safety. *American Journal of Infection Control*, p. 209 – 218, 1996.
- BOONME, P.; SONGKRO, S. Antiperspirants and Deodorants: Active Ingredients and Novel Formulations. *Journal of Clinical Dermatology*, v. 1, n. 2, p. 67 – 72, 2010.
- BOSTANCIOĞLU, R. B.; KÜRKÇÜOĞLU, M.; BAŞER, K. H. C.; KOPARAL, A. T. Assessment of anti-angiogenic and anti-tumoral potentials of *Origanum onites* L. essential oil. *Food and Chemical Toxicology*, v. 50, n. 6, p. 2002 – 2008, 2012.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Decreto Nº 79.094, de 05 de Janeiro de 1977. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 4 ago. 2012.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Definição de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. **RDC Nº 211, de 14 de julho de 2005**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 4 ago. 2012.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. **RDC nº 17, de 16 de abril de 2010**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 29 ago. 2013.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Listas de substâncias que os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes não devem conter exceto nas condições e com as restrições estabelecidas. **RDC Nº 03, de 20 de Janeiro de 2012**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 23 jun. 2013.
- BRAZ, J. R. C. Fisiologia da termorregulação normal. *Revista Neurociências*, v. 13, n. 3, p. 12 – 17, 2005.
- BUTLER, E.; WHELAN, M. J.; RITZ, K.; SAKRABANI, R.; EGMOND, R. V. The effect of triclosan on microbial community structure in three soils. *Chemosphere*, v. 89, p. 1 – 9, 2012.

BUSATTA, C.; MOSSI, A. J.; RODRIGUES, M. R. A.; CANSIAN, R. L.; OLIVEIRA, J. V. Evaluation of *Origanum vulgare* essential oil as antimicrobial agent in sausage. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 610 – 616, 2007.

CADBY, P. A.; TROY, W. R.; MIDDLETON, J. D.; VEY, M. G. H. Fragrances: are they safe? **Flavour and Fragrance Journal**, v.17, p. 472 – 477, 2002.

CAMPOS, T. C. A. **Perfil das consumidoras de salões de beleza no Brasil**. 2012. 84f. Monografia (Especialista em Comunicação e Marketing) - Setor de Pós-Graduação da Universidade do Extremo Sul Catarinense, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2012.

CANDAN, F.; UNLU, M.; TEPE, B.; DAFERERA, D., POLISSIOU, M.; SÖKMEN, A.; AKPULAT, A. Antioxidant and antimicrobial activity of essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 87, p. 215 – 220, 2003.

CARDOSO, P. O.; RODRIGUES, K. C. L.; MENDES, K. M. Avaliação de pacientes submetidos a tratamento cirúrgico de hiperidrose palmar quanto à qualidade de vida e ao surgimento de hiperidrose compensatória. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 36, n. 1, p. 14 – 18, 2009.

CARMO, E. S.; LIMA, E. O.; SOUZA, E. L. The potential of *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) essential oil in inhibiting the growth of some food-related *Aspergillus* species. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n. 2, p. 362 – 367, 2008.

CASTILHO, P. C.; FEIO, S. S.; WEINHOLD, T. S.; GOUVEIA, S. C. Evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of essential oils, extracts and their main components from oregano from Madeira Island, Portugal. **Food Control**, v. 23, p. 552 – 558, 2012.

CHAMMA, M. F. Desafios da indústria cosmética da Amazônia: o caso “Chamma da Amazônia”. **T&C Amazônia**, n. 11, p. 59 – 64, 2007.

CHEN, M. J.; LIU, Y. T.; LIN, C. W.; PONNUSAMY, V. K., JEN, J. F. Rapid determination of triclosan in personal care products using new in-tube based ultrasound-assisted salt-induced liquid–liquid microextraction coupled with high performance liquid chromatography-ultraviolet detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 767, p. 81 – 87, 2013.

CHEN, W.; VILJOEN, A. M. Geraniol — A review of a commercially important fragrance material. **South African Journal of Botany**, v. 76, p. 643 – 651, 2010.

CHEN, X.; ZHANG, Y.; ZU, Y.; FU, Y.; WANG, W. Composition and biological activities of the essential oil from *Schisandra chinensis* obtained by solvent-free microwave extraction. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 2047 – 2052, 2011.

COSTA, F.; CUNHA, L. C.; SERAFINI, A. B. Estudo da microbiota bacteriana axilar de voluntários residentes na cidade de Goiânia-GO. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n. 2, p. 56 – 59, 2005.

CUI, W.; QUAN, X.; TAO, K.; TENG, Y.; ZHANG, X.; LIU, Y.; SHI, G.; HOU, T. Mechanism of action of neomycin on *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 95, p. 85 – 89, 2009.

DEEPAK, J.; YOGITA, J.; MEENAKSHI, J. Herbal Cosmeceuticals. **Global Research on Traditional Reports**, v. 1, n. 1, p. 12 – 16, 2013.

DEETA, P.; SAINT-EVE, A.; SPINLER, H. E.; HELINCK, S. Critical effect of oxygen on aroma compound production by *Proteus vulgaris*. **Food Chemistry**, v. 126, p. 134 – 139, 2011.

DEWICK, Paul M. **Medicinal Natural Products**. 2 ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2002.

DIB, J. R.; WAGENKNECHT, M.; HILL, R. L. T.; FARÍAS, M. E.; MEINHARDT, F. First report of linear megaplasmids in the genus *Micrococcus*. **Plasmid**, v. 63, p. 40 – 45, 2010.

DRAELOS, Z. K. Cosmetics: An overview. **Current Problems in Dermatology**, v. 7, n. 2, p. 45 – 64, 1995.

DURMIC, Z.; BLACHE, D. Bioactive plants and plant products: Effects on animal function, health and welfare. **Animal Feed Science and Technology**, v. 176, p. 150 – 162, 2012.

DWECK, R. H. **A beleza como variável econômica - Reflexo nos mercados de trabalho e de bens e serviços**. Rio de Janeiro, 1999, 37p.

EISEN, D.B.; MICHAEL, D.J.. Sebaceous lesions and their associated syndromes: part II. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 61, p. 563 – 578, 2009.

EGBUOBI, R. C.; OJIEGBE, G. C., DIKE-NDUDIM, J. N.; ENWURU, P. C., Antibacterial activities of different brands of deodorants marketed in Owerri, Imo State, Nigeria. **African Journal of Clinical and Experimental Microbiology**, v. 14, n. 1, 2013.

EUROMONITOR INTERNATIONAL. 2012. Disponível em: <<http://www.euromonitor.com/>>. Acesso em: 4 ago. 2012

FACTOR/THE KLINE GROUP. **O mercado de global de cosméticos naturais: análise da situação atual e tendências**. São Paulo. 23 jul. 2009. 46 slides. Apresentação em Power-point.

Farmacopéia Brasileira. 5 ed. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária ed. eletrônica disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Brasília: 2010. vol. 1.

FERNANDES, C. P.; MASCARENHAS, M. P.; ZIBETTI, F. M.; LIMA, B. G.; OLIVEIRA, R. P. R. F.; ROCHA, L.; FALCÃO, D. Q. HLB value, an important parameter for the development of essential oil phytopharmaceuticals. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 1, p. 108 – 114, 2013.

FISS, E.M.; RULE, K.L.; VIKESLAND, P.J. Formation of chloroform and other chlorinated byproducts by chlorination of triclosan-containing antibacterial products. **Environmental Science & Technology**, v. 41, n. 7, p. 2387 – 2394, 2007.

FIORENTINO, F. A. M. **Desenvolvimento e controle de qualidade de formulação cosmética contendo digluconato de clorexidina.** 2009. 194f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”, Araraquara, 2009.

FONTES, I. J. G. Antioxidantes como substâncias cosmetologicamente activas. 2013. 42 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2013.

FREDRICH, E.; BARZANTNY, H.; BRUNE, I.; TAUCH, A. Daily battle against body odor: towards the activity of the axillary microbiota. **Trends in Microbiology**, v. 21, n. 6, p. 305 – 312, 2013.

FROTA, Evanise Batista. **Produtor de cosméticos.** Fortaleza: Edições Demócrito Rocha, 2012. 72p.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 2, p. 178 – 182, 2005.

GAO, C.; TIAN, C.; LU, Y.; XU, J.; LUO, J.; GUO, X. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Sphallerocarpus gracilis* seeds against selected food-related bacteria. **Food Control**, v. 22, p. 517 – 522, 2011.

GIROVA, T.; GOCHEV, V.; JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; SCHMIDT, E.; STOYANOVA, A. Antimicrobial activity of essential oils from spices against psychrotrophic food spoilage microorganisms. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, p. 547 – 552, 2010.

GIROTTI, G. **Sustainability and Green Strategies in the Cosmetic Industry: Analysis of Natural and Organic Cosmetic Products from the value chain to final certification.** 2012. 161 f. Monografia (Licenciatura em Relações Internacionais Comparativas) - Facoltà di lingue e letterature straniere, Università Ca' Foscari Di Venezia, Venezia, 2012.

GLOSTER JR., Hugh M. **Complications in Cutaneous Surgery.** 1. ed. Estados Unidos: Springer. 2008. 256 p.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374 – 381, 2007.

GREENBLATT, C.L.; BAUM, J.; KLEIN, B.Y.; NACHSHON, S.; KOLTUNOV, V.; CANO, R.J. *Micrococcus luteus* - Survival in Amber. **Microbial Ecology**, v. 48, p. 120 – 127, 2004.

GRICE, E. A.; SEGRE, J. A. The skin microbiome. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, p. 244 – 253, 2011.

GUBERT, C. **Prospecção e propagação vegetativa de espécies aromáticas da floresta ombrófila densa na região litorânea do Paraná**. 2011. 118f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

GUIRAO, G. Y.; TOLDOS, M. C. M.; PERIS, B. M.; DOMÍNGUEZ, R. L.; OTERO, M. R.; BELLIDO, J. L. M.; HERNÁNDEZ, M. S. Activity of new quinolones against clinical isolates of *Corynebacterium* species. **Revista Española de Quimioterapia**, v. 13, n. 3, p. 267 – 270, 2000.

GULLUCE, M.; KARADAYI, M.; GUVENALP, Z.; OZBEK, H.; ARASOGLU, T.; BARIS, O. Isolation of some active compounds from *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* and determination of their genotoxic potentials. **Food Chemistry**, v. 130, p. 248 – 253, 2012.

GUYTON, Arthur C.; HALL, John E. Tratado de fisiologia médica. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. 1128 p.

HABERBECK, L. U.; RIEHL, C. A. S.; SALOMÃO, B. C. M.; ARAGÃO, G. M. F. *Bacillus coagulans* spore inactivation through the application of oregano essential oil and heat. **LWT - Food Science and Technology**, n. 46, p. 267 – 273, 2012.

HAGVALL, L.; BARON, J. M.; BÖRJE, A.; WEIDOLF, L. MERK, H.; KARLBERG, A. T. Cytochrome P450-mediated activation of the fragrance compound geraniol forms potent contact allergens. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 233, n. 2, p. 308 – 313, 2008.

HAMERMESH, D., BRIDDLE, J. E. Beauty and the labor market. **The American Economic Review**, v. 84, n. 5, 1994.

HAPPI, Green is the new black: innovations abound in natural ingredients for household and personal care products in 2009. **Household & Personal Products Industry**, v. 46, n. 6, p. 45 – 54, 2009.

HARPER, B. Beauty, stature and the labour market: a british cohort study. **Oxford Bulletin of Economics and Statistics**, v. 62, p. 771 – 800, 2000.

HARRIS, M. I. N. C. **Pele, estrutura, propriedades e envelhecimento**. 3. ed. Editora Senac São Paulo, 2009. 165 p.

HAUSNER, B. Desodorantes e Antiperspirantes. **Cosmetics & Toaletics**, v. 5, p. 28 – 32, 1993.

HEISTERBERG, M. V., MENNÉ, T., ANDERSEN, K. E., AVNSTORP, K., KRISTENSEN, B., KRISTENSEN, O., KAABER, K., LAURBERG, G., NIELSEN, N. H., SOMMERLUND, M., THORMANN, J., VEIEN, N. K., VISSING, S., JOHANSEN, J. D.,. Deodorants are the leading cause of allergic contact dermatitis to fragrance ingredients. **Contact Dermatitis**, v. 64, p. 258 – 264, 2011.

HERNÁNDEZ, J. S.; PERIS, B. M.; GUIRAO, G. Y.; ZUFIAURREA, N. G.; BELLIDO, J. L. M.; HERNÁNDEZ, M. S; RODRÍGUEZ, J. A. G. In vitro activity of newer antibiotics against *Corynebacterium jeikeium*, *Corynebacterium amycolatum* and *Corynebacterium urealyticum*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 22, n. 5, p. 492 – 496, 2003.

HOIBY, N.; JARLOV, J. O.; KEMP, M.; TVEDE, M.; BANGSBORG, J. M.; KJERULF, A.; PERS, C.; HANSEN, H. Excretion of ciprofloxacin in sweat and multiresistant *Staphylococcus epidermidis*. **The Lancet**, v. 349, p. 167 – 169, 1997.

HOQ, M. I.; IBRAHIM, H. R. Potent antimicrobial action of triclosan–lysozyme complex against skin pathogens mediated through drug-targeted delivery mechanism. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, p. 130 – 137, 2011.

JAMES, A. G.; AUSTIN, C. J.; COX, D. S.; TAYLOR, D.; CALVERT, R. Microbiological and biochemical origins of human axillary odour. **Federation of European Microbiological Societies**, v. 83, p. 527 – 540, 2013.

JONES, A.; DUERBECK, K. **Natural ingredients for cosmetics**. EU Market Survey. Centre for the Promotion of Imports from developing countries (CBI). 2004. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 87, p. 215 – 220, 2003.

KAISER, G. E. Website for Dr. Kaiser's microbiology course. Doc Kaiser's Microbiology Home Page. 2009. Disponível em: <<http://student.cbcmd.edu/~gkaiser/goshp.html>>. Acesso em: 5 set 2012.

KAMPF, G. State-of-the-art hand hygiene in community medicine. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 206, p. 465 – 472, 2003.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia Básica e Clínica**. 10 ed. Porto Alegre: Mcgraw-hill Interamericana, 2010. 1008 p.

KAURINOVIC, B.; POPOVIC, M.; VLAISAVLJEVIC, S.; TRIVIC, S. Antioxidant Capacity of *Ocimum basilicum* L. and *Origanum vulgare* L. Extracts. **Molecules**, v. 16, p. 7401 – 7414, 2011.

KAYE, E. T. Topical antibacterial agents. Infectious disease. **Clinics of North America**, v. 14, n. 2, p. 321 – 339, 2000.

KARAKAYA, S.; NEHIR EL, S.; KARAGÖZLÜ, N.; ŞAHİN, S. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oils Obtained from Oregano (*Origanum vulgare* ssp. hirtum) by Using Different Extraction Methods. **Journal of Medicinal Food**. v. 14, n. 6, p. 645 – 652, 2011.

KARAMANOS, A. J.; SOTIROPOULOU, D. E. K. Field studies of nitrogen application on Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. hirtum (Link) letsvaart) essential oil during two cultivation seasons. **Industrial Crops and Products**, v. 46, p. 246 – 252, 2013.

KHOSRAVI, A. R.; SHOKRI, H.; KERMANI, S.; DAKHILI, M.; MADANI, M.; PARSA, S. Antifungal properties of *Artemisia sieberi* and *Origanum vulgare* essential oils against *Candida glabrata* isolates obtained from patients with vulvovaginal candidiasis. **Journal de Mycologie Médicale**. v. 21, p. 93 – 99, 2011.

KLASCHKA, U. Contact allergens for armpits - Allergenic fragrances specified on deodorants. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, p. 1 – 8, 2012.

KONG, H. H. Skin microbiome: genomics-based insights into the diversity and role of skin microbes. **Trends in Molecular Medicine**, v. 17, n. 6, p. 320 – 328, 2011.

KONG, H. H.; SEGRE, J. A. Skin Microbiome: Looking Back to Move Forward. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 132, p. 933 – 939, 2012.

KOOKEN, J. M.; FOX, K. F.; FOX, A. Characterization of *Micrococcus* strains isolated from indoor air. **Molecular and Cellular Probes**, v. 26, p. 1 – 5, 2012.

LAMBERT, R.J.W.; SKANDAMIS, P.N.; COOTE, P.J.; NYCHAS, G.J.E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, p. 453 – 462, 2001.

LANGEVELD, W. T.; VELDHUIZEN, E. J. A.; BURT, S. A. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. **Critical Reviews in Microbiology**, p. 1 – 19, 2013.

LAUBACH, H. E.; GHANAVATI, S. H.; WHIDDEN, G. Antimicrobial activity of multipurpose essential oil blends. **Health**, v. 4, n. 8, p. 443 – 447, 2012.

LEVINSON, Warren. **Microbiologia Médica e Imunológica**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 663 p.

LICINA, B. Z.; STEFANOVIC, O. D.; VASIC, S. M.; RADOJEVIC, I. D.; DEKIC, M. S.; COMIC, L. R. Biological activities of the extracts from wild growing *Origanum vulgare* L. **Food Control**, v. 33, p. 498 – 504, 2013.

LIOLIOS, C.C.; GORTZI, O.; LALAS, S.; TSAKNIS, J.; CHINOI, I. Liposomal incorporation of carvacrol and thymol isolated from the essential oil of *Origanum*

dictamnus L. and in vitro antimicrobial activity. **Food Chemistry**, v. 112, p. 77 – 83, 2009.

LIO, P. A.; KAYE, E. T. Topical Antibacterial Agents. **Medical Clinics of North America**, v. 95, p. 703 – 721, 2011.

LORENZ, C., VON GOETZ, N., SCHERINGER, M., WORMUTH, M., UNGERBÜHLER, K., Potential exposure of German consumers to engineered nanoparticles in cosmetics and personal care products. **Nanotoxicology**, v. 5, p. 12 – 29, 2011.

LU, H.; MA, H.; TAO, G. Spectrophotometric determination of triclosan in personal care products. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 73, p. 854 – 857, 2009.

LUBBE, A.; VERPOORTE, R. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. **Industrial Crops and Products**. v. 34, p. 785 – 801, 2011.

LUPE, F. A. **Estudo da composição química de óleos essenciais de plantas aromáticas da Amazônia**. 2007. 120 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

LUZ, I. S.; GOMES NETO, N. J.; TAVARES, A. G.; MAGNANI, M.; SOUZA, E. L. Exposure of *Listeria monocytogenes* to sublethal amounts of *Origanum vulgare* L. essential oil or carvacrol in a food-based medium does not induce direct or cross protection. **Food Research International**, v. 48, p. 667 – 672, 2012.

LV, F.; LIANG, H.; YUAN, Q.; LI, C. In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. **Food Research International**, v. 44, p. 3057 – 3064, 2011.

MACHADO, B. A. S.; RIBEIRO, D. S.; DRUZIAN, J. I. Estudo prospectivo relativo à atividade antimicrobiana de algumas plantas aromáticas. **Cadernos de Prospecção**, v. 6, n. 1, p. 97 – 105, 2013.

MANOS, J.; BELAS, R. The genera *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. **The Prokaryotes**, v. 6, p. 245 – 269, 2006.

MARIENHAGEN, J.; BOTT, M. Metabolic engineering of microorganisms for the synthesis of plant natural products. **Journal of Biotechnology**, p. 1 – 13, 2012.

MARQUES, F. C. **Agrobiodiversidade e criatividade: contra a tendência, produzindo plantas medicinais no Sul do Brasil**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008, 18 p.

MELO, C. F. **Conversão do biocida triclosan catalisada por enzimas oxidativas e avaliação da remoção da atividade antibacteriana**. 2010. 137 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

MCGRATH, K. G. Apocrine sweat gland obstruction by antiperspirants allowing transdermal absorption of cutaneous generated hormones and pheromones as a link to the observed incidence rates of breast and prostate cancer in the 20th century. **Medical Hypotheses**, v. 72, p. 665 – 674, 2009.

MELTER, O.; TKADLEC, J.; SEDLÁČEK, I. A simple and cost-effective cover-glass test for the differentiation between staphylococci and micrococci in clinical laboratory. **Journal of Microbiological Methods**, p. 1 – 3, 2012.

MIDDLETON, J. H.; SALIERNO, J. D. Antibiotic resistance in triclosan tolerant fecal coliforms isolated from surface waters near waste water treatment plant outflows (Morris County, NJ, USA). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 88, p. 79 – 88, 2013.

MIGUEL, L. M. Experiências sobre a Utilização da Biodiversidade: as bioindústrias de cosméticos na Amazônia brasileira. In: ENCUENTRO DE GEÓGRAFOS DA AMÉRICA LATINA – EGAL, 12., 2009, Montevideu, **Anais...** Montevideu, 2009, p. 1 – 12.

MIGUEL, L. M. Tendências do uso de produtos naturais nas indústrias de cosméticos da França. **Revista Geográfica de América Central**, p. 1 – 15, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **PORTARIA Nº 3.011, DE 1º DE DEZEMBRO DE 2009.**

Disponível em:

<bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/.../prt0623_29_03_2011.html>. Acesso em: 3 set. 2012.

MISHRA, Saroj K.; AGRAWAL, Dipti. **A Concise Manual of Pathogenic Microbiology**. 1. ed. Canada: Wiley-Blackwell. 2012. 208 p.

MOHAMED, N. A.; NASSIER, O. A. The Antihyperglycaemic Effect of the Aqueous Extract of *Origanium vulgare* leaves in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. **Jordan Journal of Biological Sciences**, v. 6, n. 1, p. 31 – 38, 2013.

MORENTE, E. O.; FERNÁNDEZ-FUENTES, M. A.; BURGOS, M. J. G.; ABRIOUEL, H.; PULIDO, R. P.; GÁLVEZ, A. Biocide tolerance in bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 162, p.13 – 25, 2013.

NAKATSU, T. ; LUPO JR., A. T.; CHINN JR., J. W.; KANG. R. K. L. Biological activity of essential oils and their constituents. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 21, p. 571 – 631, 2000.

NARDELLI, A., DRIEGHE, J., CLAES, L., BOEY, L., GOOSSENS, A., Fragrance allergens in 'specific' cosmetic products. **Contact Dermatitis**, v. 64, p. 212 – 219, 2011.

NASCIMENTO, L.; RAFFIN, R. P.; GUTERRES, S. S. Aspectos atuais sobre a segurança no uso de produtos antiperspirantes contendo derivados de alumínio, **Infarma**, v.16, n 7-8, p. 66 – 72, 2004.

NEGI, P. S. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. **International Journal of Food Microbiology**, v. 156, p. 7 – 17, 2012.

NIEMANN, C.; HORSLEY, V. Development and homeostasis of the sebaceous gland. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 23, p. 928 – 936, 2012.

NOSTRO, A.; BLANCO, A. R.; CANNATELLI, M. A.; ENEA, V.; FLAMINI, G.; MORELLI, I.; ROCCARO, A. S.; ALONZO, V. Susceptibility of methicillin-resistant staphylococci to oregano essential oil, carvacrol and thymol. **FEMS Microbiology Letters**, v. 230, p. 191 – 195, 2004.

ORGANIC MONITOR. 2012. Disponível em:< <http://www.organicmonitor.com>>. Acesso em: 4 ago. 2012

ORTON, D. I.; WILKINSON, J. D. Cosmetic Allergy: Incidence, Diagnosis, and Management. **American Journal of Clinical Dermatology**, v. 5, n. 5, p. 327 – 337, 2004.

PAES, A. C.; MANGIA, S. H.; FLAMINIO, A. P.; LARA, G. H. B.; LISTONI, F. J. P. Perfil de sensibilidade de bactérias isoladas de animais domésticos na região de Botucatu frente ao cloranfenicol e florfenicol. *Veterinária e Zootecnia*, v. 16, n. 1, p. 161 – 172, 2009.

PALASTANGA, Nigel; SOAMES, Roger. **Anatomy and Human Movement**. 6 ed. Reino Unido: Elsevier, 2012. 640p.

PANDEY, S. K.; KIM K. Human body-odor components and their determination. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, n. 5, p. 784 – 796, 2011.

PATRONE, V.; CAMPANA, R.; VITTORIA, E.; BAFFONE, W. In vitro synergistic activities of essential oils and surfactants in combination with cosmetic preservatives Against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. **Current Microbiology**, v. 60, n. 4, p. 237 – 241, 2010.

PERRONE, C. A. **Estado de hidratação, sudorese e reidratação durante uma sessão de treino no calor em jovens praticantes de diferentes esportes**. 2010. 101 f. Tese (Doutorado em Ciências do Movimento Humano) - Escola de Educação Física, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

PERRONE, C. A.; MEYER, F. Avaliação do estado hidroeletrolítico de crianças praticantes de exercício físico e recomendação de hidratação. **Revista Brasileira de Ciências do Esporte**, v. 33, n. 3, p. 773 – 786, 2011.

PESSANHA, B.; FARBA, A.; LWINC, T.; LLOYDC, B.; VIRMANI, R. Infectious endocarditis due to *Corynebacterium xerosis*. **Cardiovascular Pathology**, v. 12, p. 98 – 101, 2003.

PORRAS-LUQUE, J. I. Antimicrobianos tópicos en Dermatología. **Actas Dermo-Sifiliográficas**, v. 98, n. 1, p. 29 – 39, 2007.

PROESTOS, C.; LYTOUDI, K.; MAVROMELANIDOU, O. K.; ZOUMPOULAKIS, P.; SINANOGLU, V. J. Antioxidant Capacity of Selected Plant Extracts and Their Essential Oils. **Antioxidants**, v. 2, p. 11 – 22, 2013.

PRISTA, Luís. N.; BAHIA, Maria. F. G.; VILAR, Edmundo. **Dermofarmácia e cosmética**. 1. ed. Porto: Associação Nacional das Farmácias, 1992. 304 p.

PROIA, L.; MORIN, S.; PEIPOCH, M.; ROMANÍ, A.M.; SABATER, S. Resistance and recovery of river biofilms receiving short pulses of Triclosan and Diuron. **Science of the Total Environment**, v. 409, p. 3129 – 3137, 2011.

PROIA, L.; VILCHES, C.; BONINNEAU, C.; KANTIANI, L.; FARRÉ, M.; ROMANÍ, A. M.; SABATER, S.; GUASCH, H. Drought episode modulates the response of river biofilms to triclosan. **Aquatic Toxicology**, v. 127, p. 36 – 45, 2013.

RASTOGI, S. C.; HEYDORN, S.; JOHANSEN, J. D.; BASKETTER, D. A. Fragrance chemicals in domestic and occupational products. **Contact Dermatitis**, v. 45, n. 4, p. 221 – 225, 2001.

REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C.; ARNASON, J. T. Essential Oils in Insect Control: Low-Risk Products in a High-Stakes World. **Annual Review of Entomology**, v. 57; p. 405 – 424, 2012.

ROBINSON, A. M.; BANNISTER, M.; CREETH, J. E.; JONES, M. N. The interaction of phospholipid liposomes with mixed bacterial biofilms and their use in the delivery of bactericide. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 186, p. 43 – 53, 2001.

RODRIGUES, M. R. A. **Estudo dos óleos essenciais presentes em manjerona e orégano**. 2002. 181 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

SADAKA, F.; NGUIMJEU, C.; BRACHAIS, C. H.; VROMAN, I.; TIGHZERT, L.; COUVERCELLE, J. P. Review on antimicrobial packaging containing essential oils and their active biomolecules. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, p. 1 – 77, 2013.

SAHIN, F.; GÜLLÜCE, M.; DAFERERA, D.; SÖKMEN, A.; SÖKMEN, M., POLISSIOU, M.; AGAR, G.; ÖZER, H. Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. **Food Control**, v. 15, p. 549 – 557, 2004.

SANKAR, R.; KARTHIK, A.; PRABU, A.; KARTHIK, S.; SHIVASHANGARI, K. S.; RAVIKUMAR, V. *Origanum vulgare* mediated biosynthesis of silver nanoparticles for its antibacterial and anticancer activity. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 108, p. 80 – 84, 2013.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELENA, 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**, n. 35, p. 275 – 280, 2004.

SCHEMAN, A. Adverse reactions to cosmetic ingredients. **Dermatologic Clinics**, v. 18, n. 4, p. 685 – 698, 2000.

SEBRAE. SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. 2012. Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/setor/cosmeticos/o-setor/estudos-e-estatisticas/integra_bia/ident_unico/20264>. Acesso em: 4 ago. 2012

SCHAFER, F.; FICH, F.; LAM, M.; GÁRATE, C.; WOZNIAK, A.; GARCIA, P., Antimicrobial susceptibility and genetic characteristics of *Propionibacterium acnes* isolated from patients with acne. **International Journal of Dermatology**, v. 52, p. 418 – 425, 2013.

SCHUCH, T. L. **Toxicidade dérmica e ocular do óleo essencial de orégano 3% (*Origanum vulgare* L.)**. 2011. 32f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

SHERIDAN, À.; LENAHAN, M.; DUFFY, G.; FANNING, S.; BURGESS, C. The potential for biocide tolerance in *Escherichia coli* and its impact on the response to food processing stresses. **Food Control**, v. 26, p. 98 – 106, 2012.

SIKANDER, M.; MALIK, S.; PARVEEN, K.; AHMAD, M.; YADAV, D.; HAFEEZ, Z. B.; BANSAL, M. Hepatoprotective effect of *Origanum vulgare* in Wistar rats against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. **Protoplasma**, 2012.

SILVA, N.; ALVES, S.; GONÇALVES, A.; AMARAL, J. S.; POETA, P. Antimicrobial activity of essential oils from mediterranean aromatic plants against several foodborne and spoilage bacteria. **Food Science and Technology International**, p. 1 – 8, 2013.

SILVA, J. P. L.; DUARTE-ALMEIDA, J. M.; PEREZ, D. V.; FRANCO, B. D. G. M. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella* Enteritidis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 136 – 141, 2010.

SILVA FILHO, J. E.; RODRIGUES, S. S. F. B. Prospecção tecnológica do uso do óleo essencial de cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*) e do eugenol na formulação de produtos para higiene pessoal, alimentos e medicamentos. **Cadernos de Prospecção**. v. 5, n. 3, p.152 – 158, 2012.

SMALLEGANGE, R. C.; VERHULST, N. O.; TAKKEN, W. Sweaty skin: an invitation to bite? **Trends in Parasitology**, v. 27, n. 4, p. 143 – 148, 2011.

SMITH, A. C.; HUSSEY, M. A.. Gram Stain: Gram-Positive Rods. American Society for Microbiology, Washington DC. 2005. Disponível em: <<http://lib.jiangnan.edu.cn/ASM/115-9.jpg>>. Acesso em: 5 set 2012.

SOLÓRZANO-SANTOS, F.; MIRANDA-NOVALES, M. G. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. **Current Opinion in Biotechnology**. v. 23, p. 136 –141, 2012.

SOUSA, J. P.; AZERÊDO, G. A.; TORRES, R. A.; VASCONCELOS, M. A. S.; CONCEIÇÃO, M. L.; SOUZA, E. L. Synergies of carvacrol and 1,8-cineole to inhibit bacteria associated with minimally processed vegetables. **International Journal of Food Microbiology**, v. 154, n. 3, p. 145 – 151, 2012.

SOUZA, E. L.; BARROS, J. C.; OLIVEIRA, C. E. V.; CONCEIÇÃO, M. L. Influence of *Origanum vulgare* L. essential oil on enterotoxin production, membrane permeability and surface characteristics of *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 137, p. 308 – 311, 2010.

SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O.; BARBOSA FILHO, J. M.; MARQUES, M. O. M. Interference of heating on the antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) essential oil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 2, p. 418 – 422, 2008.

SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O.; TRAJANO, V. N. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. **Food Control**, v. 18, n. 5, p. 409 – 413, 2007.

SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O.; TRAJANO, V. N.; BARBOSA FILHO, J. M. Orégano (*Origanum vulgare* L., Lamiaceae): uma especiaria como potencial fonte de compostos antimicrobianos. **Revista Higiene Alimentar**, v. 19, n. 132, p. 40 – 45, 2005.

SOUZA-MOREIRA, T. M.; SALGADO, H. R. N.; PIETRO, R. C. L. R. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, p. 435 – 440, 2010.

STOJKOVIĆ, D.; GLAMOČLIJA, J.; ĆIRIĆ, A.; NIKOLIĆ, M.; RISTIĆ, M.; ŠILJEGOVIĆ, J.; SOKOVIĆ, M. Investigation on antibacterial synergism of *Origanum vulgare* and *Thymus vulgaris* essential oils. **Archives of Biological Science Belgrade**, v. 65, n. 2, p. 639 – 643, 2013.

TAGLIOLATTO, S.; ALCHORNE, M. M. A.; ENOKIHARA, M. Hiperplasia sebácea cutânea: estudo piloto para a correlação da doença com hormônios androgênicos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 5, p. 917 – 923, 2011.

TAMURA, I.; KANBARA, Y.; SAITO, M.; HORIMOTO, K.; SATOH, M.; YAMAMOTO, H.; OYAMA, Y. Triclosan, an antibacterial agent, increases intracellular Zn²⁺ concentration in rat thymocytes: Its relation to oxidative stress. **Chemosphere**, v. 86, p. 70 – 75, 2012.

TAO, B. Y. Chapter 24. Industrial Applications for Plant Oils and Lipids. **Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources**, p. 611 – 627, 2007.

TEIXEIRA, B.; MARQUES, A.; RAMOS, C.; SERRANO, C.; MATOS, O.; NENG, N. R.; NOGUEIRA, J. M. F.; SARAIVA, J. A.; NUNES, M. L. Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2013.

THYSSEN, J. P., MENNÉ, T., LINNEBERG, A., JOHANSEN, J. D. Contact sensitization to fragrances in the general population: a Koch's approach may reveal the burden disease. **British Journal of Dermatology**, v. 160, n. 4, p. 729 – 735, 2009.

TIBALDI, G.; FONTANA, E.; NICOLA, S. Growing conditions and postharvest management can affect the essential oil of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) letsvaart. **Industrial Crops and Products**, v. 34, p. 1516 – 1522, 2011.

TKACHENKO, O.; SHEPARD, J.; ARIS, V. M.; JOY, A.; BELLO, A.; LONDONO, I.; MARKU, J.; SOTEROPOULOS, P.; PETEROY-KELLY, M. A. A triclosan-ciprofloxacin cross-resistant mutant strain of *Staphylococcus aureus* displays an alteration in the expression of several cell membrane structural and functional genes. **Research in Microbiology**, v. 158, p. 651 – 658, 2007.

TORRES, L. C.; CASTAÑEDA, F. M. D.; ROSADIO, G. E.; MONTAÑEZ, E. E. Efecto sinérgico del aceite esencial de *Origanum vulgare* a la Gentamicina en cultivos de *Escherichia coli*. **Ciencia e Investigación Médica Estudiantil Latinoamericana**, v. 13, n. 2, 2008.

TRABULSI, Luiz R.; ALTERTHUM, F. Microbiologia. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. 760 p.

UNION FOR ETHICAL BIOTRADE. 2012. Disponível em: <<http://www.ethicalbiotrade.org>>. Acesso em: 4 ago. 2012

USP – **The United States Pharmacopeia. 21 ed.** Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 1985.

USP – **The United States Pharmacopeia. 22 ed.** Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 1990.

VALE-SILVA, L.; SILVA, M. J.; OLIVEIRA, D.; GONÇALVES, M. J.; CAVALEIRO, C.; SALGUEIRO, L.; PINTO, E. Correlation of the chemical composition of essential oils from *Origanum vulgare* subsp. *virens* with their in vitro activity against pathogenic yeasts and filamentous fungi. **Journal of Medical Microbiology**, v. 61, p. 252 – 260, 2012.

VANDERFORD, B.J.; MAWHINNEY, D.B.; ROSARIO-ORTIZ, F.L.; SNYDER, S.A. Real-time detection and identification of aqueous chlorine transformation products using QTOF MS. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 11, p. 4193 – 4199, 2008.

VARVARESOU, A.; PAPAGEORGIOU, S.; TSIRIVAS, E.; PROTOPAPA, E.; KINTZIOU, H.; KEFALA, V.; DEMETZOS, C. Self-preserving cosmetics. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 31, p. 163 – 175, 2009.

VERMAAK, I.; KAMATOU, G.P.P; KOMANE-MOFOKENG, B.; VILJOEN, A.M.; BECKETT, K. African seed oils of commercial importance — Cosmetic applications. **South African Journal of Botany**, v. 77, p. 920 – 933, 2011.

VIVIER, Anthony du. **Atlas de Dermatologia Clínica**. 3. ed. Londres: Elsevier, 2004. 772 p.

WANG, B.; DENG, J.; GAO, Y.; ZHU, L.; HE, R.; XU, Y. The screening toolbox of bioactive substances from natural products: A review. **Fitoterapia**, v. 82, p. 1141 – 1151, 2011.

WILSON, Michael. **Microbial Inhabitants of Humans: Their Ecology and Role in Health and Disease**. 1. ed. Reino Unido: Cambridge University Press, 2005. 457 p.

WOLLENBERG, A.; SCHNOPP, C. Evolution of Conventional therapy in atopic dermatitis. **Allergy and Immunology Clinics of North America**, v. 30, p. 351 – 368, 2010.

YAZDANKHAH, S. P.; SCHEIE, A. A.; HOIBY, E. A.; LUNESTAD, B.; HEIR, E.; FOTLAND, T. O.; NATERSTAD, K.; KRUSE, H. Triclosan and Antimicrobial Resistance in Bacteria: An Overview. **Microbial Drug Resistance**, v. 12, n. 2, p. 83 – 90, 2006.

YUNES, R.A.; PEDROSA, R.C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, p. 147 – 152, 2001.

ZARATE JR., F. M.; SCHULWITZ, S. E. ; STEVENS, K. J.; VENABLES, B. J. Bioconcentration of triclosan, methyl-triclosan, and triclocarban in the plants and sediments of a constructed wetland. **Chemosphere**, v. 88, p. 323 – 329, 2012.