

Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre leveduras *Candida* não *albicans*

Antifungal activity of essential oils on non *Candida albicans* yeasts

Maiza Rocha de Abrantes¹, Edeltrudes de Oliveira Lima², Mariana Araújo Paulo de Medeiros¹, Camilla Pinheiro de Menezes², Felipe Queiroga Sarmiento Guerra² & Eveline Pipolo Milan³.

¹Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas – UFRN; ²Departamento de Ciências Farmacêuticas / Centro de Ciências da Saúde – UFPB; ³Departamento de Infectologia – UFRN

RESUMO: Os produtos oriundos de plantas medicinais com atividade antimicrobiana vêm ganhando grande perspectiva e tem como meta a obtenção de princípios ativos para uma possível aplicação prática no tratamento das infecções. Neste trabalho foi realizada uma avaliação da atividade antifúngica desses óleos essenciais (OE) obtidos de plantas medicinais sobre *Candida* não *albicans*, isoladas das mucosas vaginal e anal. A metodologia empregada foi à técnica de difusão com disco, em ágar Sabouraud dextrose. Os ensaios foram realizados em duplicata e os resultados considerados positivos quando as médias aritméticas dos halos de inibição apresentaram valores iguais ou superiores a 15 mm de diâmetro, em pelo menos, 50% do total das cepas testadas. Dentre os produtos testados, as leveduras foram resistentes ao OE de *Coriandrum sativum*. No entanto apresentaram boa sensibilidade aos OEs de *Citrus limonum*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Eucalyptus globulus*, *Eugenia coryophyllata*, *Mentha arvensis*, *Mentha piperita*, *Mentha spicata*, *Origanum vulgare*, *Pimpinella anisum* com média de halos de inibição entre 18 a 49 mm de diâmetro. Considerando os resultados obtidos no estudo, conclui-se que os OEs acima citados, exceto o *C. sativum*, mostraram forte atividade anti-*Candida*. Planeja-se realizar investigações mais amplas de tais produtos para a inibição do crescimento de leveduras *Candidas* não *albicans*.

PALAVRAS CHAVES: Plantas medicinais, Produtos naturais, Resistência a medicamentos.

ABSTRACT: The products from medicinal plants with antimicrobial activity have been gaining great perspective and aims to achieve active principles for a possible practical application in the treatment of infections. This work was carried out an evaluation of the antifungal activity of these essential oils (EO) obtained from medicinal plants on non-*Candida albicans* isolated from vaginal and anal mucosa. The methodology used was the disk diffusion technique in Sabouraud dextrose agar. Assays were performed in duplicate and the results considered positive when the averages of inhibition halos show values equal or superior to 15 mm in diameter, at least 50% of strains tested. Among the products tested, the yeasts were resistant OE *Coriandrum sativum*. However showed good sensitivity to the EOs of *Citrus Limonum*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Eucalyptus globulus*, *Eugenia coryophyllata*, *Mentha arvensis*, *Mentha piperita*, *Mentha spicata*, *Origanum vulgare*, *Pimpinella anisum* mean inhibition zones between 18 and 49 mm in diameter. Considering the results obtained in the study, it is concluded that the EOs listed above, except *C. sativum*, showed strong anti-*Candida* activity. It is planned to carry out more extensive investigation of such a product for inhibiting yeast growth *Candidas* not *albicans*.

KEYWORDS: Medicinal plants, Natural products, Drug resistance.

*Autor Correspondente: Maiza Rocha de Abrantes. Rua Maria Nazaré de Araújo, 365, Capim Macio, Natal, Rio Grande do Norte, RN. CEP:59082-380. Telefones do Trabalho: (84)33429796, (84)334299797, (84)33429801. Celular: (84) 99551703. E-mail: maizajr1@ufrnet.br

INTRODUÇÃO

Candidíase é a mais frequente infecção fúngica oportunista endógena, por isso somente ocorre em tecidos de hospedeiros que apresentam comprometimento de seus sistemas específicos ou inespecíficos de defesa, causando significativa mortalidade e morbidade (Rukayadi *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2011; Kothavade *et al.*, 2010).

Atualmente leveduras não *Candida albicans* como *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis* e outras espécies têm apresentado maior importância na etiologia das infecções fúngicas, quanto ao problema da resistência antifúngica (Rukayadi *et al.*, 2011; Asadzadeh *et al.*, 2008; Yaya *et al.*, 2008).

Preocupações com o surgimento de cepas resistentes aos antifúngicos convencionais têm aumentado e a realização de estudos de vigilância da resistência antimicrobiana de leveduras tem ocorrido frequentemente. Um exemplo é um estudo publicado em 2008 por Yang e colaboradores, realizado com um total de 964 isolados de *Candida* coletados em Taiwan, onde os autores observaram que 16 dos 17 isolados anfotericina B - resistentes pertenciam a espécies de *Candida* não-*albicans*.

É bom ressaltar a questão da resistência *in vitro* versus *in vivo* em isolados de *Candida* não-*albicans*, bem como da resistência inata e adquirida. Espécies como *C. krusei* apresenta resistência intrínseca ao fluconazol, ao passo que outras espécies, como *C. tropicalis* e *C. glabrata* têm apresentado crescente resistência adquirida (Tan *et al.*, 2008).

De forma convencional, o tratamento da candidíase não tem se mostrado abrangente em sua totalidade pelo surgimento de constantes barreiras ocasionadas, principalmente, pela reduzida quantidade de agentes antimicóticos disponíveis para tratamento sistêmico, como também a elevada toxicidade dos mesmos e o crescente aumento de espécimes resistentes aos antifúngicos (Khan *et al.*, 2012; Kiraz & Yasemin, 2011).

A crescente preocupação com a resistência e com a toxicidade dos antifúngicos, fez surgir importantes estudos relacionados com atividade antifúngica de produtos vegetais, destacando-se entre eles os realizados por Yaya *et al.*, 2011, Oliveira *et al.*, 2011, Zapata *et al.*, 2010; Coutinho *et al.*, 2009, os quais testaram compostos derivados de produtos naturais contra várias espécies fúngicas. A tendência atual nas pesquisas com produtos naturais é a obtenção de princípios ativos contidos nas espécies vegetais para uma possível aplicação no tratamento de infecções causadas por microrganismos, entre eles, os fungos.

Os óleos essenciais, são compostos químicos oriundos do metabolismo secundário das espécies vegetais, constituindo uma rica fonte de compostos biologicamente ativos. São conhecidos desde a antiguidade por possuir propriedades antifúngicas cuja utilização pode representar um avanço contra os mecanismos de resistência que inativam antifúngicos padrões (Castro, 2010; Saad *et al.*, 2010; Tempone *et al.*, 2008). Assim, a descoberta de produtos naturais com princípios ativos de atividade antifúngica pode representar uma nova ferramenta à produção e o uso de fitoterápicos no combate aos agentes infecciosos (Khan, *et al.*, 2012; Mendes, 2011; Silva, *et al.*, 2009).

Dentro desse contexto, o objetivo desse estudo foi realizar um “screening” da atividade antifúngica de óleos essenciais sobre leveduras *Candida* não *albicans* o qual será utilizado em futuras investigações.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho do estudo

Trata-se de um estudo “*in vitro*”, onde foram estimadas as ações biológicas de óleos essenciais de plantas medicinais brasileiras frente às leveduras *Candida* não *albicans*, isoladas das mucosas vaginal e anal.

Óleos Essenciais

Os óleos essenciais selecionados para a realização do estudo foram extraídos dos espécimes botânicos especificados no quadro 1.

Quadro 1. Óleos essenciais utilizados no “screening” para determinação da atividade antifúngica sobre cepas de *Candida não albicans*.

Espécie	Família	Nome popular
<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume	Lauraceae	canela-da-índia
<i>Citrus limonum</i> Burm. F.	Rutaceae	limão-siciliano
<i>Coriandrum sativum</i> L. Krause	Apiaceae	coentro
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill	Myrtaceae	eucalipto
<i>Eugenia coryophyllata</i> Thumb.	Lamiaceae	cravo-da-índia
<i>Mentha arvensis</i> L. Stewart	Lamiaceae	hortelã comum
<i>Mentha piperita</i> L. Briq.	Lamiaceae	hortelã-pimenta
<i>Mentha spicata</i> Schrad. ex Willd	Lamiaceae	hortelã-peluda
<i>Ocimum basilicum</i> Schumach. & Thonn	Lamiaceae	manjerição
<i>Origanum vulgare</i> L. (G. Beck) Klok	Lamiaceae	orégano
<i>Pimpinella anisum</i> Gaertn.	Apiaceae	erva-doce

Fonte: www.plantamed.com.br

Os óleos essenciais foram obtidos pelo processo de extração por destilação a vapor, segundo as técnicas adotadas pela FERQUIMA – Indústria e Comércio Limitada, Vargem Grande / São Paulo.

Microorganismos

Para o estudo de atividade antifúngica com óleos essenciais, foram utilizados isolados de *Candida não albicans* obtidos de um banco preexistente, provenientes de vagina e ânus. Este banco foi coletado e identificado pelo Laboratório de Micologia do Hospital Giselda Trigueiro (HGT) Natal-RN, mediante aprovação do Comitê de Ética do Centro de Ciências da Saúde da UFRN, sob protocolo 154/06. As cepas foram identificadas através de sua macro e micromorfologia, comportamento fisiológico e bioquímico, conforme o protocolo recomendado por Kurtzman & Feel, 1998. A concordância dos resultados da identificação bioquímica do Banco de Leveduras foi realizada no Laboratório de Microbiologia do Hospital Pediátrico Maria Alice Fernandes, Natal (RN), através do Sistema MicroScan®.

Inóculo

A partir das culturas recentes e mantidas em Ágar Sabouraud Dextrose - ASD (Difco® - France), durante 24-48 horas a 35°C, o inóculo foi preparado e padronizado em solução fisiológica a 0,9% estéril. Inicialmente, preparou-se uma suspensão comparativa com o tubo 0,5 da escala de Mc Farland. A mesma foi ajustada no espectrofotômetro (Leitz-Photometer 340-800), para conter aproximadamente 106 UFC/mL. Em seguida, essa suspensão foi diluída com água destilada numa proporção de 1:9 resultando em um inóculo contendo aproximadamente 105 UFC/mL, que foi utilizado nos ensaios (Koneman et al., 2008; Ostrosky et al., 2008).

“Screening” microbiológico

Para a realização do estudo, os óleos essenciais foram utilizados “in natura”. O método microbiológico utilizado foi o de difusão em meio sólido com discos de papel (Sensibiodisc do Centro de Controle e Produtos para Diagnósticos Ltda – CECON/SP) impregnados com 10 µL dos óleos essenciais, desenvolvidos em ASD. O sistema foi incubado a 35°C, por 48 horas (Koneman et al., 2008; Yaya, 2008; Ostrosky et al., 2008). Os ensaios foram realizados em duplicatas e os resultados considerados positivos quando a média aritmética dos halos de inibição apresentaram valores iguais ou superiores a 15 mm de diâmetro, em pelo menos, 50% do total das cepas testadas (Mendes, 2011).

A nistatina (Centro de Controle e Produtos para Diagnósticos Ltda – CECON/SP) foi selecionada como antifúngico padrão, após realização do antifungigrama pelo método microbiológico de difusão em ASD, o qual apresentou melhor perfil de sensibilidade para esse banco de leveduras.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo permitiu identificar através da avaliação pré-clínica a atividade antifúngica de óleos essenciais sobre *Candida* não albicans, utilizando o método de investigação preliminar, difusão em meio sólido. Tal método fornece informação qualitativa, mas bastante útil para estabelecer a sensibilidade de microrganismos aos óleos essenciais.

Na tabela 1 estão apresentados os resultados dos óleos essenciais testados sobre leveduras *Candida* não albicans, isoladas da mucosa vaginal. Dentre, os onze produtos testados, as leveduras apresentaram-se resistentes apenas ao óleo essencial de *C. sativum*, os demais óleos (*C. limonum*, *C. zeylanicum*, *E. coryophyllata*, *E. globulus*, *M. arvensis*, *M. piperita*, *M. spicata*, *O. basilicum*, *O. vulgare* e *P. anisum*), produziram intensa atividade, pois a média dos seus halos de inibição oscilou entre 17 a 49 mm de diâmetro, mostrando-se superiores à média daqueles obtidos com a droga padrão nistatina (16 mm).

Tabela 1 – Halos de inibição de onze óleos essenciais e nistatina sobre *Candida* não albicans de origem vaginal

Cepas	Óleos essenciais (mm)											Controle nistatina (NY)
	<i>C. limonum</i>	<i>C. sativum</i>	<i>C. zeylanicum</i>	<i>E. coryophyllata</i>	<i>E. globulus</i>	<i>M. arvensis</i>	<i>M. piperita</i>	<i>M. spicata</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>O. vulgare</i>	<i>P. anisum</i>	
<i>C. parapsiloses</i> 02V	50	0	23	0	50	50	50	50	20	14	50	15
<i>C. parapsiloses</i> 15V	50	0	22	17	50	50	50	50	19	23	50	15
<i>C. guilliermondii</i> 30V	50	0	20	22	50	50	50	50	18	50	50	18
<i>C. guilliermondii</i> 33V	50	0	34	34	50	50	50	50	16	30	50	19
<i>C. parapsiloses</i> 50V	50	0	22	12	50	50	50	50	16	50	25	19
<i>C. guilliermondii</i> 62V	50	0	34	30	50	50	50	50	22	30	50	12
<i>C. guilliermondii</i> 66V	40	0	18	19	35	50	50	50	10	22	24	20
<i>C. parapsiloses</i> 71V	50	0	35	50	50	50	50	50	20	50	50	15
<i>C. guilliermondii</i> 75V	50	0	23	22	50	50	50	50	14	20	50	20
<i>C. guilliermondii</i> 81VC	50	0	28	50	50	50	50	50	18	50	50	12
<i>C. glabrata</i> 82V	50	0	23	50	50	50	50	50	20	50	50	16
<i>C. glabrata</i> 85V	50	0	20	18	30	50	50	50	16	15	24	13
<i>C. guilliermondii</i> 91V	48	0	20	20	40	42	42	42	15	24	30	16
<i>C. guilliermondii</i> 94V	50	0	22	20	50	50	50	50	20	50	50	13

Os resultados apresentados na tabela 2 são referentes aos ensaios para avaliação da atividade antifúngica dos óleos essenciais testados sobre o crescimento de leveduras *Candida não albicans*, isoladas da mucosa anal. Essas leveduras apresentaram resistência ao óleo essencial de *C. sativum*, perfil semelhante ao observado as de origem vaginal. O óleo de *O. basilicum* também apresentou perfil de resistência para essas leveduras desse sítio, pois a média aritmética dos halos de inibição apresentaram valores inferiores a 15mm de diâmetro, em mais de 50% das cepas testadas. Os demais óleos produziram intensa atividade, onde a média dos seus halos de inibição foi, entre 24 a 49 mm de diâmetro, mostrando-se bem superiores à média da droga padrão nistatina com 17 mm de diâmetro.

Tabela 2 – Halos de inibição de onze óleos essenciais e nistatina sobre *Candida não albicans* de origem anal

Cepas	Óleos essenciais (mm)											Controle nistatina (NY)
	<i>C. limonum</i>	<i>C. sativum</i>	<i>C. zeylanicum</i>	<i>E. coryophyllata</i>	<i>E. globulus</i>	<i>M. arvensis</i>	<i>M. piperita</i>	<i>M. spicata</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>O. vulgare</i>	<i>P. anisum</i>	
<i>C. parapsiloses</i> 02A	50	0	18	0	50	50	50	50	14	50	50	13
<i>C. glabrata</i> 15A	50	0	20	15	40	50	50	50	12	50	30	22
<i>C. parapsiloses</i> 30A	50	0	34	34	50	50	50	50	16	30	50	19
<i>C. guillemontii</i> 31A	50	0	30	30	50	50	50	50	16	50	50	17
<i>C. guillemontii</i> 33A	50	0	20	20	50	50	50	50	0	50	50	21
<i>C. glabrata</i> 50A	50	0	22	12	50	50	50	50	14	50	25	15
<i>C. guillemontii</i> 62A	50	0	22	20	50	50	50	50	16	50	50	14
<i>C. parapsiloses</i> 71A	50	0	30	22	50	50	50	50	15	50	50	15
<i>C. guillemontii</i> 75A	50	0	23	22	50	50	50	50	14	20	50	23
<i>C. glabrata</i> 81A	50	0	25	25	50	50	50	50	22	50	50	15
<i>C. glabrata</i> 82A	50	0	18	20	40	50	50	50	14	50	50	17
<i>C. glabrata</i> 85A	38	0	18	15	34	30	30	30	10	40	20	14
<i>C. guillemontii</i> 91A	50	0	36	22	42	50	50	50	10	50	50	17
<i>C. guillemontii</i> 94A	50	0	24	20	50	50	50	50	20	50	50	16
<i>C. guillemontii</i> 96A	50	0	22	20	44	50	50	50	15	50	50	17
<i>C. guillemontii</i> 98A	50	0	20	20	50	50	50	50	20	50	50	18

Os melhores resultados foram observados para os óleos essenciais de *C. limonum*, *E. globulus*, *M. arvensis*, *M. piperita*, *M. spicata*, *O. vulgare* e *P. anisum*. A maioria destes óleos é originada de plantas pertencentes à família *Lamiaceae*. Isto pode significar que os mesmos compostos sejam responsáveis pela atividade anticandida nestas plantas.

Mendes, 2011 observou halos médios de inibição de 42mm, 21mm, 39mm e 43mm, respectivamente para os óleos essenciais de *C. zeylanicum* (canela-da-índia), *C. sativum* L (coentro), *E. coryophyllata* (cravo-da-índia) e *O. vulgare* L. (orégano), sobre *Candida tropicalis*. Em nosso estudo também foram observados bons resultados para *C. zeylanicum* (canela-da-índia), *E. coryophyllata* (cravo-da-índia) e *O. vulgare* L. (orégano). Apenas *C. sativum* L (coentro) não apresentou perfil de sensibilidade.

Kouidhi *et al.*, 2010 utilizando o método de difusão em disco relataram a potente atividade antibacteriana e antifúngica do óleo de *Eugenia caryophyllata* (cravo) contra 114 cepas de bactérias cariogênicas e 46 cepas de leveduras, entre elas *Candida albicans*, *Candida guillemontii*, *Candida glabrata* e *Candida tropicalis*.

Os resultados desta investigação também se assemelham aos de Lima *et al.*, (2007) que avaliando atividade anticandida, pelo método de difusão em meio sólido, acompanhada de microdiluição, observaram que o óleo essencial de *C. zeylanicum* apresentava destacável resultado, visto que inibiu o crescimento de 58% das cepas ensaiadas e CIM de 4%.

Fu *et al.*, 2007 também puderam constatar que o óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (cravo) apresentava atividade antifúngica contra cepas de *C. albicans*, com halos de inibição de 32mm, resultados semelhantes ao que foi descrito nesta investigação para *C. não albicans*.

Utilizando a técnica de microdiluição, Yaya *et al.*, (2008 e 2011) observaram que o extrato de *Albizia myriophylla* Benth (Fabaceae) e *Curcuma xanthorrhiza* Roxb (Zingiberaceae) também apresentam atividades anticandida.

As pesquisas envolvendo plantas medicinais têm crescido significativamente em número e importância principalmente quanto aos aspectos químicos, etnobotânicos e atividade biológica, no entanto muitas são as espécies vegetais que ainda carecem de investigação. A possibilidade de se obter produtos menos agressivos, de menor custo e, portanto, mais acessíveis tem incentivado a avaliação de compostos quimicamente puros, óleos essenciais e extratos brutos no que diz respeito às suas ações terapêuticas, efeitos tóxicos, entre outros, fundamentando a validade dos princípios medicamentosos com o intuito de atender às necessidades básicas de saúde (Kurtzman & Feel, 1998). Neste contexto, os produtos naturais representam uma importante e interessante área de desenvolvimento e sua completa apreciação permite comprovar a legitimidade dos seus inúmeros benefícios.

CONCLUSÕES

Os óleos essenciais: *C. limonum*, *C. zeylanicum*, *E. globulus*, *M. arvensis*, *M. piperita*, *M. spicata*, *O. vulgare* e *P. anisum*, mostraram forte atividade anti-*Candida* independentemente do sítio de origem das espécies, superando os valores de inibição da nistatina;

O óleo essencial de *C. sativum* (Coentro) não apresentou atividade antifúngica contra as espécies de *Candida não-albicans*;

O óleo de *O. basilicum* apresentou perfil de resistência para as leveduras do sítio anal.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Hospital Giselda Trigueiro (HGT) e o Hospital Pediátrico Maria Alice Fernandes, Natal-RN pela doação e identificação bioquímica do Banco de Leveduras.

REFERENCIAS

Asadzadeh M, Al-Sweih, NA, Khan AS, Zia U. Susceptibilidade antifúngica de isolados clínicos de *Candida parapsilosis* do Kuwait. *Journal compilation. Blackwell Publishing Ltd. Mycoses*. 51: 318–323, 2008.

Castro RD. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Canela) e de sua associação com antifúngicos sintéticos sobre espécies de *Candida*. Tese. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa. 2010. 169p.

Disponível em: http://btdt.biblioteca.ufpb.br/tde_arquivos/13/TDE-2012-03-26T100354Z-1516/Publico/arquivototal.pdf. Acesso em Julho de 2012.

Coutinho HDM, Costa JGM, Lima EO, Silva VSF, Siqueira Jr JP, Potentiating effect of *Mentha arvensis* and chlorpromazine in the resistance to aminoglycosides of methicillin – resistant *Staphylococcus aureus*. *In vivo* 23:287-290, 2009.

Fu YJ, Zu YG, Chen LY, Shi XG, Wang Z, Sun S, Efferth T. Antimicrobial Activity of Clove and Rosemary Essential Oils Alone and in Combination. *Phytotherapy Research*. 21: 989–994, 2007.

Khan SMA, Malik A, Ahmad I. Anti-candidal activity of essential oils alone and in combination with amphotericin B or fluconazole against multi-drug resistant isolates of *Candida albicans*. *Medical Mycology*. 50:33–42, 2012.

Kiraz NU & Yasemin OZ. A distribuição das espécies e suscetibilidade in vitro de isolados clínicos de *Candida* de um hospital universitário na Turquia ao longo de um período de 5 anos. *Medical Mycology February*. 49: 126–131, 2011.

- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr. WC. Diagnóstico Microbiológico. Texto e Atlas Colorido, 6. ed. São Paulo: Médica e Científica Ltda, 2008. 1565 p.
- Kothavade RJ, Kura MM, Valand AG, Panthaki MH. *Candida tropicalis*: its prevalence, pathogenicity and increasing resistance to fluconazole. *Journal of Medical Microbiology*. 59(8):873-80, 2010.
- Koudhi B, Zmantar T, Bakhrouf A. Anticariogenic and cytotoxic activity of clove essential oil (*Eugenia caryophyllata*) against a large number of oral pathogens. *Annals of Microbiology*. 60:599-604, 2010.
- Kurtzman CP & Fell JW. The yeasts, a taxonomic study, 4. ed. Amsterdam: Elsevier, 1998. 605p.
- Lima IO, Oliveira RAG, Lima EO, Farias NMPELS. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. *Revista Brasileira de Farmacognosia. Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 17(2):186-190, 2007.
- Mendes, J. M. Investigação da atividade antifúngica de óleo essencial de *Eugenia coryophyllata* Thunb. sobre cepas de *Candida tropicalis*. 2011. 78p. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos – Concentração: Farmacologia). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB. Disponível em:
http://bdtd.biblioteca.ufpb.br/tde_arquivos/13/TDE-2012-03-26T100354Z-1516/Publico/arquivototal.pdf. Acesso em Julho de 2012.
- Oliveira WA, Pereira FO, Luna GCDG, Lima IO, Wanderley PA, Lima RB, Lima EO. Antifungal activity of *Cymbopogon winterianus* jowitt ex bor against *Candida albicans*. *Brazilian Journal of Microbiology*. 42(2):433-41, 2011.
- Ostrosky EA, Mizumoto MK, Lima MEL, Kaneko TM, Nishikawa SO, Freitas BR. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana de determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 18(2):301-307, 2008.
- Plantamed**, <http://www.plantamed.com.br>. Acesso em Julho de 2012.
- Rukayadi Y, Han S, Yong D, Hwang Jae-Kwan. *In vitro* activity of xanthorrhizol against *Candida glabrata*, *C. guilliermondii*, and *C. parapsilosis* biofilms. *Medical Mycology*. 49: 1–9, 2011.
- Saad A, Fadli M, Bouaziz M, Benharref A, Mezrioui NE, Hassani L. Anticandidal activity of the essential oils of *Thymus maroccanus* and *Thymus broussonetii* and their synergism with amphotericin B and fluconazol. *Phytomedicine*. 17(13): 1057–60, 2010.
- Silva FM, Paula JE, Espindola LS. Evaluation of the antifungal potential of Brazilian Cerrado medicinal plants. *Mycoses*. 52(6):511–17, 2009.
- Tan TY, Tan AL, Tee NWSA. Retrospective analysis of antifungal susceptibilities of *Candida* bloodstream isolates from Singapore Hospitals. *Annals Academy in Medicine Singapore*. 37(10):835-40, 2008.
- Tempone AG, Sartorelli P, Teixeira D, Prado FO, Calixto IA, Lorenzi H, Melhem MS. Brazilian flora extracts as source of novel antileishmanial and antifungal compounds. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 103(5): 443-449, 2008.
- Yang YL, Leaw SN, Wang AH, Cheng HT, Cheng WT, Lo HJ. Characterization of yeasts colonizing in healthy individuals. *Medical Mycology*. 49:103–106, 2011.
- Yang YL, Wang AH, Wang CW, Cheng WT, Li SY, Lo HJ. Susceptibilidades à anfotericina B e fluconazol de espécies de *Candida* em Taiwan. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 61:175-180, 2008.
- Yaya R, Jae-Seok, S, Jae-Kwan H, Screening of thai medicinal plants for anticandidal activity. *Journal compilation Mycoses*. 51: 308-312, 2008.
- Yaya R, Han S, Yyong D, Jae-Kwan H. Atividade in vitro de Xanthorrhizol contra *Candida glabrata*, *C. guilliermondii* e *C. parapsilosis* isoladas de biofilmes. *Medical Mycology*. 49: 1–9, 2011.
- Zapata B, Durán C, Stashenko E, Betancur-Galvis L, Arango ACM. Actividad antimicótica y citotóxica de aceites esenciales de plantas de la familia Asteraceae. *Revista Iberoamericana de Micología*. 27(2):101–103, 2010.