

UNILEÃO  
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

LETÍCIA DE OLIVEIRA FEITOSA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E MODULATÓRIA DO ÓLEO  
ESSENCIAL DE *Cleome spinosa jacq* (MUSSAMBÊ)**

Juazeiro do Norte – CE  
2018

LETÍCIA DE OLIVEIRA FEITOSA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E MODULATÓRIA DO ÓLEO  
ESSENCIAL DE *Cleome spinosa jacq* (MUSSAMBÊ)**

Artigo Científico apresentado à  
Coordenação do Curso de Graduação em  
Biomedicina do Centro Universitário Leão  
Sampaio, em cumprimento às exigências para a  
obtenção parcial do grau de bacharel em  
Biomedicina.

**Orientador:** Esp. Cícero Roberto Nascimento  
Saraiva

Juazeiro do Norte – CE  
2018

LETÍCIA DE OLIVEIRA FEITOSA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E MODULATÓRIA DO ÓLEO  
ESSENCIAL DE *Cleome spinosa* jacq (MUSSAMBÊ)**

Artigo Científico apresentado à  
Coordenação do Curso de Graduação em  
Biomedicina do Centro Universitário Leão  
Sampaio, em cumprimento às exigências para a  
obtenção parcial do grau de bacharel em  
Biomedicina.

**Orientador:** Esp. Cícero Roberto Nascimento  
Saraiva

**Data de aprovação: 08/06/2018**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Esp. Cícero Roberto Nascimento Saraiva  
**Orientador**

---

Prof<sup>a</sup> Esp. Raket Olinda Macedo da silva  
**Examinador 1**

---

Prof<sup>a</sup> Esp. Livia Maria Garcia Leandro  
**Examinador 2**

## **AValiação DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E MODULATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cleome spinosa jacq***

Letícia de Oliveira Feitosa<sup>1</sup>; Cícero Roberto Nascimento Saraiva<sup>2</sup>

### **RESUMO**

O presente trabalho teve como objetivo de avaliar atividade antifúngica e modulatória do óleo essencial de *Cleome Spinosa jacq*. A extração do óleo essencial foi realizada utilizando-se sistema de arraste de vapor, e coletado em um aparelho doseador tipo Cleavenger. Trata-se de um estudo experimental de carácter qualitativo e quantitativo. Através das folhas da espécie foi possível obter o óleo essencial. Foi empregada uma técnica de microdiluição para determinação da Concentra Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fúngica Mínima (CFM). Foram usadas linhagens padrões de leveduras, como *Candida tropicalis* e *Candida Albicans*. A *Candida Albicans* mostrou uma sensibilidade maior ao produto natural notando-se que não houve crescimento da mesma no BHI líquido desta forma foi determinado a CIM, ao contrario de *Candida Tropicalis* que apresentou uma maior resistência ao produto testado observando turvação nítida no meio BHI líquido confirmando crescimento. No teste de modulação *Candida albicans* não apresentou uma alteração quando comparada a atividade antifúngica, observando que a mesma continuava sendo sensível aos testes que foram feitos. No caso de *Candida tropicalis*, o sinergismo da *Cleome spinosa jacq* com o Fluconazol potenciou seu efeito e conseguiu inibir seu crescimento em uma concentração maior. CFM apresentou os mesmo resultados da CIM, tendo o crescimento de *Candida Tropicalis* no meio ASD e *Candida Albicans* sem apresentar qualquer crescimento. Portanto conclui-se que os resultados adquiridos tem grande importância, demonstrando potencial para que novas pesquisas clínicas sejam feitas, na busca de novos fármacos como uma alternativa aos demais antifúngicos comerciais numa tentativa de minimizar a resistência fúngica.

**Palavra-chave:** Antifúngico. *Cleome spinosa jacq*. Plantas medicinais.

## **EVALUATE THE ANTIFUNGAL AND MODULATORY ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL OF *Cleome spinosa jacq***

### **ABSTRACT**

This study aimed to carry out evaluate the antifungal and modulatory activity of essential oil of *Cleome spinosa jacq*. The extraction of essential oil was accomplished using system of draft and vapor, and reaped in a doser set kind Cleavenger. This is an experimental study of a qualitative and quantitative nature. Through the leaves of the species it was possible to obtain the essential oil. A microdilution technique was used to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Fungal Concentration (CFM). Standard strains of yeasts, such as *Candida tropicalis* and *Candida albicans*, were used. *Candida Albicans* showed a greater sensitivity to the natural product, noting that there was no growth of the same in the liquid BHI in this way the MIC was determined, unlike *Candida Tropicalis* that presented a higher resistance to the product tested observing clear turbidity in the liquid BHI medium confirming growth. In the modulation test *Candida albicans* did not present a change when

compared to the antifungal activity, observing that it was still sensitive to the tests that were done. In the case of *Candida tropicalis*, the synergism of *Cleome spinosa* jacq with Fluconazole potentiated its effect and was able to inhibit its growth in a greater concentration. CFM presented the same CIM results, with the growth of *Candida Tropicalis* in the ASD medium and *Candida Albicans* without any growth. Therefore, it is concluded that the acquired results are of great importance, demonstrating the potential for new clinical research to be done in the search for new drugs as an alternative to other commercial antifungal agents in an attempt to minimize fungal resistance.

<sup>1</sup> Discente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, Juazeiro do Norte - CE

<sup>2</sup> Docente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, Juazeiro do Norte – CE

**Keyword:** Antifungal. *Cleome spinosa* jacq. Medicinal plants.

## 1 INTRODUÇÃO

Quando se procura conseguir substâncias ativas de plantas, as principais características que devem ser observadas são as que consistem nas informações relatadas na medicina popular. Dados da literatura mostram que é possível encontrar atividade biológica em produtos naturais quando se tem orientações do seu uso na medicina popular do que plantas que são escolhidas pelo acaso (OLIVEIRA et al., 2006; NUNES et al 2003).

As plantas tem uma grande importância para saúde mundial, apesar de várias inovações, observa-se na medicina moderna, que as mesmas ainda continuam sendo muito utilizadas. Em pesquisas realizadas, observa-se que grande parte das substancias analisadas com propriedades terapêuticas são constituídas de produtos naturais (VEIGA-JUNIOR, 2008).

Segundo Siqui et al. (2000), os óleos essenciais, que são substâncias extraídas em diversas plantas medicinais, estão relacionados com várias funções, sendo a mais comum na defesa de microrganismos. Vale ressaltar que as plantas medicinais possuem na sua composição óleo variáveis, ou seja, cada espécie possui seu óleo, que ao ser testado será possível descobrir uma ação contra determinado patógeno (GONÇALVES et al., 2003; SILVA et al., 2003).

Desde modo, a funcionalidade dos produtos naturais mostrou que os mesmos possuem determinadas substâncias que são utilizadas como uma forma de tratamento frente a várias patologias, como por exemplo, os produtos naturais que possuem efeitos antifúngicos, que auxiliam na diminuição de enfermidades e obtendo assim, resultados positivos para a cura de

infecções (ZACCHINO; YUNES; CALIXTO, 2001).

O Brasil é um país que possui espécies diversificadas de plantas medicinais, *Cleome spinosa* Jacq é uma delas, conhecida por “mussambê”, localizada principalmente na região do Nordeste, têm uma maior frequência nas margens dos rios e lagos, e é utilizada na medicina tradicional como um método de minimizar problemas respiratórios como por exemplos, asma e bronquite, distúrbios inflamatórios, doenças degenerativas e entre outras (LORENZI, 2000).

Atualmente, há um aumento na procura por plantas medicinais com o intuito de tratar doenças, e usá-las como métodos de minimizar patologias frente a seus compostos para fins terapêuticos, com isso, na perspectiva de compreender como funcionam as diversas propriedades desenvolvidas por espécies vegetais, o presente trabalho teve como objetivo de avaliar atividade antifúngica e modulatória do óleo essencial de *Cleome spinosa* Jacq.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 LOCAL E PERÍODO DE REALIZAÇÃO DOS TESTES**

As atividades foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio (Unileão) Juazeiro do Norte – CE, durante o mês de Março de 2018.

### **2.2 MATERIAL VEGETAL**

A espécie *Cleome spinosa* foi coletada no Haras Melo, no município do Juazeiro da Bahia. A identificação botânica e o depósito da exsicata foram realizadas no Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima – HCDAL da Universidade Regional do Cariri – URCA.

### **2.3 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cleome spinosa***

A extração do óleo essencial de *Cleome spinosa* foi feita utilizando-se o sistema de arraste de vapor, e coletado em um aparelho doseador tipo Cleavenger, modificado por Gottlieb; Magalhães (1960). O procedimento foi feito de forma que as folhas de *Cleome spinosa* foram colocadas em um balão de 5 litros juntamente com 2,5 L de água, e mantido

em ebulição por 2 horas. Após obtida a mistura água/óleo no doseador, foi separado, tratada com sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) e filtrada para haver separação total do óleo e da água.

## **2.4 PREPARO DA SOLUÇÃO INICIAL E DE TESTE**

O preparo da solução inicial das amostras foi feita diluindo 10  $\mu\text{L}$  do óleo em 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO – Merck, Darmstadt, Alemanha), para a obtenção de uma concentração inicial. A partir desta concentração, foi realizada diluição em água destilada estéril a fim de atingir a concentração de 16 384  $\mu\text{g/mL}$  (solução teste).

## **2.5 LINHAGENS, DROGAS UTILIZADAS E MEIOS DE CULTURA**

Os microrganismos que foram utilizados nos testes de sensibilidade aos produtos naturais foram obtidos do Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular (LMBM) da Universidade Regional do Cariri – URCA. Foram utilizados duas linhagens padrão de leveduras *Candida albicans* ATCC 40006 e *Candida tropicalis* ATCC 40042, bem como isolados clínicos das duas espécies. O fluconazol foi utilizado como droga de referência no teste de modulação do fármaco comercial.

## **2.6 INÓCULO**

Todas as linhagens foram inicialmente mantidas em tubos de ensaio contendo Ágar Sabouraud Dextrose ASD inclinado, sob refrigeração ( $8^\circ\text{C}$ ), no Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular - LMBM da Universidade Regional do Cariri. Para os testes da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM), na preparação do inóculo dos fungos, inicialmente os isolados foram cultivados em meio Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) vertido em placa de Petri a  $37^\circ\text{C}$  por 24 horas (overnight). A partir destas, foram preparadas suspensões dos microrganismos em tubos contendo 3 mL de solução estéril ( $\text{NaCl}$  a 0,9%). Em seguida, essas suspensões foram agitadas com auxílio do aparelho vórtex e a turbidez foi comparada e ajustada àquela apresentada pela suspensão de sulfato de bário do tubo 0,5 da escala de McFarland, a qual corresponde a um inóculo de aproximadamente 105 unidades formadoras de colônias/mL – UFC/mL (SOUZA et al., 2007).

## **2.7 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)**

A determinação da CIM do óleo essencial foi realizada pela técnica de microdiluição, utilizando placas contendo 96 cavidades com fundo chato e em triplicata (ELLOF, 1998; SOUZA et al., 2007). Em cada orifício da placa foi adicionado 100 µL do meio líquido BHI. Para distribuição na placa de microdiluição foram preparados tubos eppendorf® contendo cada um deles 1,5 mL de solução contendo 1350 µL de BHI e 150 µL da suspensão fúngica. A placa foi preenchida no sentido numérico adicionando-se 100 µL desta solução em cada poço (placa de 96 poços) e em seguida procedendo-se a microdiluição seriada com a solução de 100 µL do produto natural (JAVADPOUR et al., 1996). A revelação da CIM foi feita pela observação da turbidez provocada pelo crescimento. Foi definido que CIM para os produtos testados, como a menor concentração capaz de inibir visualmente o crescimento fúngico verificado nos orifícios, quando comparado com o crescimento controle. Variando nas concentrações de 8192 a 4 µg/mL. As placas foram levadas à estufa por 24 h à 37 °C.

## **2.8 TESTE DE MODULAÇÃO DO FLUCONAZOL**

A solução contendo o óleo essencial foi testada em concentração sub-inibitória (CIM/16). O volume de 100 µL de uma solução contendo CSD, 10% do inóculo e produto natural foram distribuídos em cada poço no sentido alfabético da placa. Logo após, 100 µL de cada antifúngico, individualmente, foi misturado ao primeiro poço, procedendo a microdiluição em série, numa proporção de 1:1 até a penúltima cavidade, a última cavidade foi usada para controle de crescimento fúngico. As concentrações do antifúngico variarão gradualmente de 512 a 0,5 µg/mL (COUTINHO et al., 2008). Foram utilizados controles de diluição dos produtos naturais, onde o inóculo foi substituído por salina, e o controle de esterilidade do meio.

## **2.11 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO FUNGICIDA MÍNIMA (CFM)**

Em cada poço da placa do teste da CIM, foi adicionada uma haste estéril, que após homogeneizar o meio contido na cavidade, foi subcultivada em placa de Petri contendo ASD, através da transferência de uma pequena alíquota da solução teste (meio + inóculo + produto

natural) para verificação de viabilidade celular. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas, e foram verificadas quanto ao crescimento ou não crescimento de colônias de *Cândida*. A CFM foi definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento de colônia fúngica frente ao produto natural (ERNST et al., 1999).

## 2.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram tabulados e analisados através dos programas Microsoft Office Excel 2010®.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao testar atividade antifúngica e modulatória da espécie de *Cleome spinosa* jacq frente as cepas de *Candida tropicalis* e *Candida albicans* foram obtidos os seguintes resultados:

Na tabela 1 está demonstrada Concentrações Inibitórias Mínimas do óleo essencial de *Cleome spinosa*, frentes as espécies de *Candida albicans* (CA INCQS 40006 e isolado clínico) e a de *Candida tropicalis* (CT INCQS 40042 e isolado clínico), respectivamente.

**Tabela 1: Concentrações Inibitórias Mínimas do óleo essencial de *Cleome spinosa*, frentes as espécies de *Candida***

| Espécie                                 | Concentração  |
|---|---------------|
| <i>C. albicans</i> INCQS 40006          | < 8 µg/mL     |
| <i>C. albicans</i> Isolado Clínico 4387 | < 8 µg/mL     |
| <i>C. tropicalis</i> INCQS 40042        | > 16384 µg/mL |
| <i>C. tropicalis</i> Isolado Clínico 23 | > 16384 µg/mL |

Desde modo, através dos métodos que foram empregados para se obter atividade antifúngica da *Cleoma spinosa* jacq foi possível alcançar resultados significativos, nota-se que o produto natural conseguiu inibir o crescimento de *Candida albicans* no meio BHI líquido, obtendo assim, um efeito positivo devido á ação do produto natural frente á espécie em questão.

Segundo Rates (2001), através do uso de produtos naturais é possível utilizar o mesmo para o tratamento de várias enfermidades, tendo em vista que algumas plantas atuam frente a

determinados microrganismos, e é capaz de inibir sua reprodução agindo no seu mecanismo de proliferação e conseguindo assim, obter resultados importantes para o tratamento ou até mesmo a cura de determinadas infecções, já que essa prática vem sendo utilizada há décadas e demonstra efeitos positivos no tratamento de patologias, dentre elas, as que são causadas por fungos (VEIGA-JUNIO, 2008).

Entretanto, o uso dos produtos naturais nem sempre é eficaz, como foi observado na espécie *Candida tropicalis*, nota-se que a mesma teve crescimento em todo o meio de BHI líquido, quando foi testada com o óleo essencial de *Cleoma spinosa* jacq, ou seja, tendo uma resistência maior nas concentrações que foram utilizadas, e apresentou turvação nítida no meio, confirmando o crescimento da mesma.

Segundo outros estudos envolvendo uso de produtos naturais para conseguir inibir o crescimento fúngico, foram utilizados o óleo essencial de *E. uniflora* e a mesma apresentou um baixo poder de inibição sobre as cepas de *Candida*, porém detectou-se sua atividade inibitória sobre *C. krusei* FCF-281. De uma forma geral, *C. tropicalis* mostrou-se como a espécie mais resistente à ação dos óleos essenciais testados (Farias; Lima, 2000; Belém, 2002).

Desta forma, verifica-se que a diferença entre maior ou menor atividade biológicas dos óleos essenciais pode ser explicada devido a suas estruturas químicas, por exemplos àquelas que possuem eugenol, citral, pineno, cineol, elemeno, furanodieno, imoneno, cariofileno, eucaliptol, carvacrol e outros. Com tudo observa que esses constituintes químicos tem a capacidade de possuírem propriedades antiparasíticas, antissépticas, antibacterianas e antifúngicas (CRAVEIRO et al., 1981; SOUZA et al., 2005).

Após a obtenção dos resultados da atividade antifúngica com as cepas analisadas, foi verificada ação sinérgica do óleo essencial da *Cleome Spnosa* jacq, com o fármaco comercial Fluconazol, adquirindo assim, os seguintes resultados:

Na tabela 2 é observada que a associação com o antifúngico, potencializou a ação do óleo essencial de *Cleome spinosa*, frentes a espécie de *Candida tropicalis* (CT INCQS 40042 e isolado clínico). Em relação à *Candida albicans*, a associação entre o medicamento e o produto natural, não teve ação sinérgica ou antagônica, obtendo os mesmos resultados da Concentração Inibitória Mínima (CIM).

**Tabela 2: Potencial modulatório do óleo essencial de *Cleome spinosa* frentes as espécies de *Candida***

| <b>Espécie</b>  | <b>Concentração</b> |
|---|---------------------|
| <i>OECs + Fluc - C. albicans INCQS 40006</i>          | < 8 µg/mL           |
| <i>OECs + Fluc - C. albicans Isolado Clínico 4387</i> | < 8 µg/mL           |
| <i>OECs + Fluc - C. tropicalis INCQS 40042</i>        | 256 µg/mL           |
| <i>OECs + Fluc - C. tropicalis Isolado Clínico 23</i> | 256 µg/mL           |

*Candida albicans* não apresentou uma alteração quando comparada a atividade antifúngica, observando que a mesma continuava sendo sensível aos testes que foram feitos associando o Fluconazol com o óleo essencial, ou seja, a ação que a cepa foi submetida continuava fazendo sua inibição, na mesma intensidade que o produto natural isolado, obtendo assim, resultados satisfatórios nos métodos que foram empregados.

Considerando a resistência das leveduras pertencentes ao gênero *Candida* frente aos produtos naturais como no caso de *Candida tropicalis*, o sinergismo da *Cleome spnosa* jacq com o Fluconazol potenciou seu efeito e conseguiu inibir seu crescimento como mostra a tabela 2.

Desde modo, a combinação de substâncias com efeito sinérgico pode aumentar a biodisponibilidade de substâncias ativas e/ou reduzirem as doses das mesmas. Conseqüentemente, a toxicidade e efeitos adversos diminuem, contribuindo dessa forma para o aumento da eficácia terapêutica, já que essa associação pode obter resultados importantes para a inibição fúngica frente aos produtos naturais (CASANOVA; COSTA, 2017).

A terapêutica contra as infecções oportunistas é baseada em fármacos derivados de azóis (ex.: fluconazol, voriconazol) e no derivado poliênico anfotericina B. Quando incluídos no mercado, estes compostos mostraram alta eficácia como agentes antifúngicos, porém a constante resistências dos microrganismos, o uso indiscriminado dos agentes antifúngicos e os efeitos adversos graves levam a necessidade constante de produzir novos fármacos no mercado e/ou promover a associação de novas substâncias naturais com esses compostos, já existentes a fim de obter maior eficácia e menores efeitos adversos (PFALLER et al.,2010; 2014; LEWIS, 2011).

#### 4. CONCLUSÃO

Conclui-se que com resultados adquiridos foram satisfatórios, demonstrando-se importante para serem feitas pesquisas clínicas, na busca de novos compostos com o intuito de apresentar uma alternativa aos demais antifúngicos comerciais, numa tentativa de minimizar a crescente resistência fúngica a esses fármacos.

#### REFERÊNCIAS

- BELÉM L.F. Estudo epidemiológico da pitiríase versicolor no estado da Paraíba e avaliação química e antifúngica de produtos naturais e sintéticos contra seu agente etiológico. João Pessoa, **Tese de Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Universidade Federal da Paraíba.** 2002.
- CRAVEIRO et al. Óleos essenciais de Plantas do Nordeste. Fortaleza: **Editora UFC.** v.1, n.1,1981.
- CASANOVA, L. M. COSTA S. S. Interações Sinérgicas em Produtos Naturais: Potencial Terapêutico e Desafios. **Revista Virtual de Química.** n 2. v. 9. 2017.
- COUTINHO, H. D. M. et al. In vitro anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*- MRSA strains. **Brazilian Journal of Pharmacognosy.** v. 18, n. 1, 2008.
- ELLOF, J. N. A sensitive and quick microplate method to determined the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. **Plantas Mediciniais.** v.1, n.1, 1998.
- ERNST E.J. et al. In vitro pharmacodynamic properties of MK-0991 determined by time-kill methods. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* n.33, v.2, 1999.
- FARIAS N.M.P, LIMA E.O. Atividade antifúngica de óleos essenciais obtidos de plantas medicinais contra leveduras do gênero *Candida*: uma alternativa no controle da infecção hospitalar. XVI Prêmio Jovem Cientista. Edição: **Saúde da população, Controle da Infecção Hospitalar.** Porto Alegre, Brasil. 2000.
- GONÇALVES, L. A et al. Produção e composição do óleo essencial de alfavaquinha (*Ocimum selloi* Benth.) em resposta a dois níveis de radiação solar. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais.** v. 6, n. 1, 2003.
- GOTTLIEB, O. R.; MAGALHÃES, M. T. Modified distillation trap. **Chemist Analyst.** v. 49, n. 1, 1960.

JAVADPOUR, M. M. et al. Antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. **Journal of Medicinal Chemistry**. v.1, n.1, 1996.

LEWIS, R.E. Current Concepts in antifungal pharmacology. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 86, n. 1, 2011.

LORENZIN H. Plantas daninhas do Brasil: terrestre, aquáticas, parasitas, e toxicas. **Nova Odessa: Instituto Plantarum**. v. 1, n. 3, 2000.

NUNES, G. P. et al. Plantas medicinais comercializadas por raizeiros no Centro de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira Farmacognosia**. v. 13, n. 2, 2003.

OLIVEIRA, R.A.G de et al. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Revista Brasileira Farmacognosia**. v. 16, n. 1, 2006.

PFALLER, et al. The CLSI Subcommittee for Antifungal Susceptibility TESTING. Wildtype MIC distributions, epidemiological cutoff values and species-specific clinical breakpoints for fluconazole and *Candida*: Time for harmonization of CLSI and EUCAST broth microdilution methods. **Drug Resistance Updates**, v. 13, n.1, 2010.

PFALLER, et al. Epidemiology and outcomes of invasive candidiasis due to non-albicans species of *Candida* in 2496 Patients: Data from the prospective antifungal therapy (PATH) registry 2004–2008. **PLoS One**, v. 9, n. 1, 2014.

RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. **Toxicon**. v. 39, n. 1, 2001.

SILVA A. F. et al. Composição química do óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 6, n. 1, 2003.

SIQUI A.C. et al. Óleos essenciais - potencial antiinflamatório. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. v.1, n.1, 2000.

SOUZA, E. L. et al. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. **Food Control**. v.1, n.1, 2007.

SOUZA et al. Inhibitory action of some essential oils and phytochemicals on the growth of moulds isolated from foods. **Braz Arch Biol Technol**. v.1, n.1, 2005.

VEIGA-JUNIOR, V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista Brasileira Farmacognosia**. v. 18, n. 2, 2008.

ZACCHINO, S; YUNES, R.A; CALIXTO, J.B. Estratégia para a descoberta de novos agentes antifúngicos e plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. **Argos editora da unochapecó**. v.1, n.1, 2001.

