

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

VANESSA DANTAS LEITE

**POTENCIAL ANTIFÚNGICO DO ÓLEO ESSENCIAL DO BOTÃO FLORAL DE
Cordia verbenacea ASSOCIADO ÀS LUZES DE LED**

Juazeiro do Norte – CE
2018

VANESSA DANTAS LEITE

**POTENCIAL ANTIFÚNGICO DO ÓLEO ESSENCIAL DO BOTÃO FLORAL DE
Cordia verbenacea ASSOCIADO ÀS LUZES DE LED**

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

Orientador: Dr Edinaldo Fagner Ferreira Matias

VANESSA DANTAS LEITE

**POTENCIAL ANTIFÚNGICO DO ÓLEO ESSENCIAL DO BOTÃO FLORAL DE
Cordia verbenacea ASSOCIADO ÀS LUZES DE LED**

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

Orientador: Dr Edinaldo Fagner Ferreira Matias

Data de aprovação: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Edinaldo Fagner Ferreira Matias
Orientador

Prof. Esp. Cícero Roberto Nascimento Saraiva
Examinador 1

Prof^a. Msc. Tassia Thaís Al Yafawi
Examinador 2

POTENCIAL ANTIFÚNGICO DO ÓLEO ESSENCIAL DO BOTÃO FLORAL DE *Cordia verbenacea* ASSOCIADO ÀS LUZES DE LED

Vanessa Dantas Leite¹
Edinardo Fagner Ferreira Matias²

RESUMO

O presente estudo objetivou avaliar o potencial antifúngico do óleo essencial do botão floral de *C. verbenacea* (OEBFCv) associado às luzes do aparelho de LED. O OEBFCv foi obtido pelo método de hidrodestilação. A atividade antifúngica e moduladora foi realizada através do método de microdiluição utilizando o OEBFCv, luzes de LED e o antifúngico cetaconazol. Os testes foram realizados em triplicata e submetidos à análise estatística. Na avaliação da atividade antifúngica do OEBFCv combinado com as luzes de LED frente *Candida albicans* (*C. albicans*) e *Candida krusei* (*C.krusei*), não houve efeito antifúngico clinicamente relevante, apresentando CIM $\geq 512\mu\text{g/mL}$. Na atividade moduladora da resistência fúngica, a associação do OEBFCv com o cetaconazol frente as espécies testadas, evidenciou um efeito antagônico, e indiferença quando combinado as luzes do LED. Porém, houve sinergismo quando associado com a luz azul do LED frente *C. albicans* e com as luzes amarela e azul frente *C. krusei*. Os dados obtidos revelam que o OEBFCv não possui capacidade de inibir o crescimento fúngico em concentrações clinicamente relevantes, porém evidencia efeito modulador, quando combinado ao antifúngico e às luzes de LED. Com isso, torna-se importante a estimulação de futuras pesquisas que aprofundem a investigação dos efeitos moduladores com o uso das luzes de LED, bem como a utilização de outras metodologias que visem esclarecer os mecanismos de ação antifúngica.

Palavras-chave: Atividade antifúngica. *Candida*. *Cordia verbenacea*. Light Emitting Diode (LED).

ANTIFUNGAL POTENTIAL OF THE ESSENTIAL OIL OF THE FLORAL BUTTON OF *Cordia verbenacea* ASSOCIATED WITH LED LIGHTS

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the antifungal potential of the essential oil of the floral bud of *Cordia verbenacea* (OEBFCv) associated with the lights of the LED apparatus. OEBFCv was obtained by hydrodistillation method. The antifungal and modulatory activity was performed through the microdilution method using the OEBFCv, LED lights and the antifungal agent cetaconazole. The tests were performed in triplicate and submitted to statistical analysis. In the evaluation of the antifungal activity of OEBFCv combined with LED lights against *Candida albicans* (*C. albicans*) and *Candida krusei* (*C. krusei*), there was no clinically relevant antifungal effect, presenting MIC $\geq 512\mu\text{g/mL}$. In the modulating activity of fungal resistance, the association of OEBFCv with cetaconazole against the species tested

¹ Discente em Biomedicina, vanessadantas76@hotmail.com, Centro Universitário Leão Sampaio- UNILEÃO

² Docente Doutor, ednardo@leaosampaio.edu.br, Centro Universitário Leão Sampaio-UNILEÃO

showed an antagonistic effect, and indifference when combined with LED lights. However, there was synergism when associated with the blue light of the LED front *C. albicans* and with the yellow and blue front lights *C. krusei*. The data obtained show that OEBFCv does not have the capacity to inhibit fungal growth in clinically relevant concentrations, but evidences the modulating effect when combined with antifungal and LED lights. Therefore, it is important to stimulate future research that deepens the investigation of the modulating effects with the use of LED lights, as well as the use of other methodologies aimed at clarifying the mechanisms of antifungal action.

Key words: Antifungal activity. *Candida*. *Cordia verbenacea*. Light Emitting Diode (LED).

1. INTRODUÇÃO

Algumas plantas medicinais exibem biomoléculas com potenciais antifúngicos que podem ser usadas para o tratamento alternativo natural ou complementar ao convencional contra agentes micóticos. A atividade anticândida também já pôde ser demonstrada por diferentes óleos essenciais (MARTINS et al., 2014; MANDRAS et al., 2016). *Cordia verbenacea* é uma planta medicinal pertencente à Família Boraginaceae, popularmente utilizada para reumatismo, problemas de coluna e artrite. Possui também propriedades anti-inflamatória e antimicrobiana (BARROSO et al., 2002; PEREIRA, 2013; PINTO; CARDOSO; ARRIGONI-BLANK, 2009; MATIAS et al., 2015).

Fungos do gênero *Candida* podem ocasionar infecções envolvendo pele, mucosas, órgãos internos ou até mesmo o sistema sanguíneo. A depender do envolvimento desse microrganismo no hospedeiro, a candidíase pode ser classificada em superficial ou sistêmica, acometendo mais pacientes imunocomprometidos (PASSOS, 2007; LIMA et al., 2006). A causadora mais prevalente de infecções fúngicas, embora seja uma espécie comensal, é *Candida albicans* (*C. albicans*), a qual na forma de hifa consegue invadir as células epiteliais e endoteliais, evadir da ação fagocitária e formar biofilmes que colonizam e consequentemente provocam danos ao tecido (TAN et al., 2014; MATHÉ; DIJCK, 2013).

A utilização de fontes luminosas no tratamento de diversas patologias cutâneas é considerada uma das medidas terapêuticas mais antigas (BAROLET, 2008). *Light Emitting Diode* (LED) são diodos semicondutores que estão sendo considerado um recurso promissor na fototerapia para o tratamento dermatofuncional, mas que ainda é pouco frequente na prática clínica. Além disso, este aparelho mostra-se eficaz na atuação antimicrobiana (MEYER, et al., 2010).

A infecção micótica é de difícil tratamento por possuir efeitos adversos e apresentar resistência, requerendo assim, a busca de alternativas na terapêutica antifúngica, como a

investigação de produtos naturais com propriedades medicinais. Tendo em vista que partes aéreas de *Cordia verbenacea*, como a folha, possuem efeito antimicrobiano, é importante analisar se outras estruturas, como o botão floral, também desempenham esta ação, bem como avaliar a potencialização desse efeito frente às luzes do aparelho de LED. Dessa forma, o presente estudo objetivou avaliar o potencial antifúngico do óleo essencial do botão floral de *Cordia verbenacea* associado às luzes do aparelho de LED.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 TIPO DE ESTUDO

O presente trabalho foi realizado a partir de um estudo experimental, de caráter qualitativo e quantitativo.

2.2 SELEÇÃO, COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

Flores de *Cordia verbenacea* foram coletadas na Chapada do Araripe situada no município de Crato, Ceará, Brasil. O material vegetal foi coletado e identificado e preparado uma exsicata da espécie com número de registro 044171 que foi depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima da Universidade Regional do Cariri – URCA.

2.3 ÓLEO ESSENCIAL

2.3.1 Extração do óleo essencial

Flores de *Cordia verbenacea* foram submetidas ao processo de hidrodestilação, durante duas horas, num aparelho do tipo Clevenger. O óleo essencial foi recolhido e em seguida teve sua umidade retirada com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), e mantido refrigerado a $< 4^\circ \text{C}$, até análise (MATOS et al., 1999).

2.4 PREPARO DAS SOLUÇÕES PARA TESTES ANTIFÚNGICOS

2.4.1 Preparo da solução inicial e das soluções de teste

No preparo da solução inicial, o óleo essencial foi solubilizado em dimetilsulfoxido (DMSO), sendo observadas as seguintes proporções: 10mg de óleo essencial solubilizado em 1mL DMSO, para obter uma concentração inicial de 10 mg/mL. Em seguida, esta solução foi

diluída em água destilada atingindo concentração de óleo de 1024µg/mL e reduzindo a concentração de DMSO para 10% e a partir desta, efetuou-se diluições seriadas de 1:2, onde DMSO apresentou concentrações < 5%, não manifestando interferência na atividade antifúngica avaliada.

2.5 MICRORGANISMOS

Os microrganismos utilizados nos testes foram *Candida albicans* (C.A URM 5597 resistente e CA INCQS 40006 padrão) e *Candida krusei* (CK INCQS 40095 padrão e CK URM 4263 resistente) obtidos através do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz, Ministério da Saúde.

2.6 MEIOS DE CULTURA

Foram utilizados nos ensaios biológicos os meios de cultura: *Heart Infusion Agar* - HIA (Difco Laboratories Ltda.), e *Brain Heart Infusion* – BHI. Todos os meios de cultura foram preparados segundo as especificações do fabricante e esterilizados em autoclave de vapor quente.

2.6.1 Preparo e padronização dos inóculos

Culturas fúngicas ficaram mantidas a 4°C em *Heart Infusion Agar* - HIA. Antes dos testes, as linhagens foram repassadas para o meio HIA e incubadas a 35°C por 24 horas. As linhagens fúngicas foram ativadas e inoculadas em *Brain Heart Infusion* - BHI na concentração recomendada pelo fabricante, e incubadas nas mesmas condições citadas anteriormente. Suspensões com crescimento fúngicos foram diluídas em BHI em concentração de 10% até a obtenção de 10⁵ céls/mL (JAVADPOUR et al., 1996)

2.7 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

Os ensaios para determinação da CIM dos produtos naturais foram efetuados através do método de microdiluição em caldo, utilizando placas esterilizadas de 96 poços com diluições em série de 1:2 e concentrações variando de 512 a 8 µg/ml (CLSI, 2015).

2.7.1 Execução e leitura dos ensaios

Culturas fúngicas mantidas em ágar estoque sob refrigeração foram repicadas em meio BHI e incubadas a 35°C durante 24 h. Após esse período, procedeu com a padronização do inóculo, que consiste na preparação de uma suspensão em BHI, cuja turvação fosse similar ao tubo 0,5 da escala McFarland (1×10^5 UFC/mL). Dessa suspensão foram retirados 100 µL e adicionado em cada poço da placa acrescido de diferentes concentrações do óleo essencial. As placas de microdiluição contendo *C. albicans* e *C. krusei* foram divididas em 4 grupos, e receberam a denominação de grupo 1 (controle - placas que acompanharam todo o processo experimental sem sofrer exposição a luz e foi utilizada para confirmar a viabilidade das colônias fúngicas), grupo 2 (vermelho – placas que foram expostas a luz vermelha do aparelho de LED), grupo 3 (azul – placas que foram expostas a luz azul do aparelho de LED), grupo 4 (amarelo – placas que foram expostas a luz amarela do aparelho de LED). As placas foram expostas a cada luz por 10 minutos (KORELO et al., 2013, modificado). A CIM foi observada pela presença ou ausência de turvação. Os testes foram realizados em triplicata e as placas serão incubadas a 35 ± 2 °C, durante 24h.

2.8 AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA DO ÓLEO ESSENCIAL SOBRE A RESISTÊNCIA AOS ANTIFÚNGICOS

A CIM do antifúngico cetaconazol foi avaliada na presença e na ausência do óleo em placas de microdiluição estéreis. O antifúngico foi avaliado nas concentrações variando de 512 a 8µg/mL, onde foram obtidos junto a Sigma®.

2.8.1 Execução e leitura dos ensaios

A atividade moduladora do antifúngico foi realizada com o cetaconazol a partir da utilização das cepas fúngicas multirresistentes onde a concentração correspondeu a 1.024µg/mL. Os antifúngicos foram diluídos em um volume de 100 µL seriadamente nos poços contendo o meio de cultura BHI e a suspensão com o inóculo da cepa multirresistente, com o produto natural na concentração subinibitória (CIM/8) (COUTINHO et al., 2010). As placas também foram divididas em 4 grupos, e receberam a denominação de grupo 1, grupo 2, grupo 3 e grupo 4, como já descrito na última sessão, também sendo expostas a cada luz de LED por 10 minutos (KORELO et al., 2013, modificado). As placas foram incubadas por 24

horas 35 ± 2 °C. Após a incubação a atividade moduladora foi evidenciada pela presença ou ausência de turvação. Todos os testes foram realizados em triplicatas e posteriormente submetidos à análise estatística.

2.9 EQUIPAMENTO DE LED

O aparelho utilizado durante o procedimento experimental foi um Diodo emissor de luz e LED, da marca Dermaled®. A unidade possui os espectros de luz vermelha, azul e amarela, permitindo também a combinação dessas cores. Cada placa recebeu irradiação por um período de dez minutos com luz azul, amarela e vermelha.

2.10 MODELO ESTATÍSTICO

Os resultados obtidos com a CIM e modulação foram distribuídos em planilha utilizando software Microsoft Excel® 2010 e em gráficos usando o programa *GraphPad Prisma 6.0*®. Os resultados foram comparados através de análise de variância (ANOVA) e a comparação entre as médias geométricas foi realizada de acordo com teste de Bonferroni sendo considerado significativo quando $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para os testes de atividade antifúngica do óleo essencial do botão floral de *Cordia verbenacea* (OEBFCv) combinado com as luzes de LED, realizados pela metodologia de microdiluição frente *Candida albicans* (*C. albicans*) e *Candida krusei* (*C.krusei*), a Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi $\geq 512\mu\text{g/mL}$. Indicando que este tipo de combinação não possui efeito antifúngico clinicamente relevante.

Beraldo et al. (2015) em seu estudo de avaliação de atividade antifúngica de produtos naturais frente a *C. albicans* utilizando a metodologia de microdiluição, também não obteve resultados capazes de inibir a cepa.

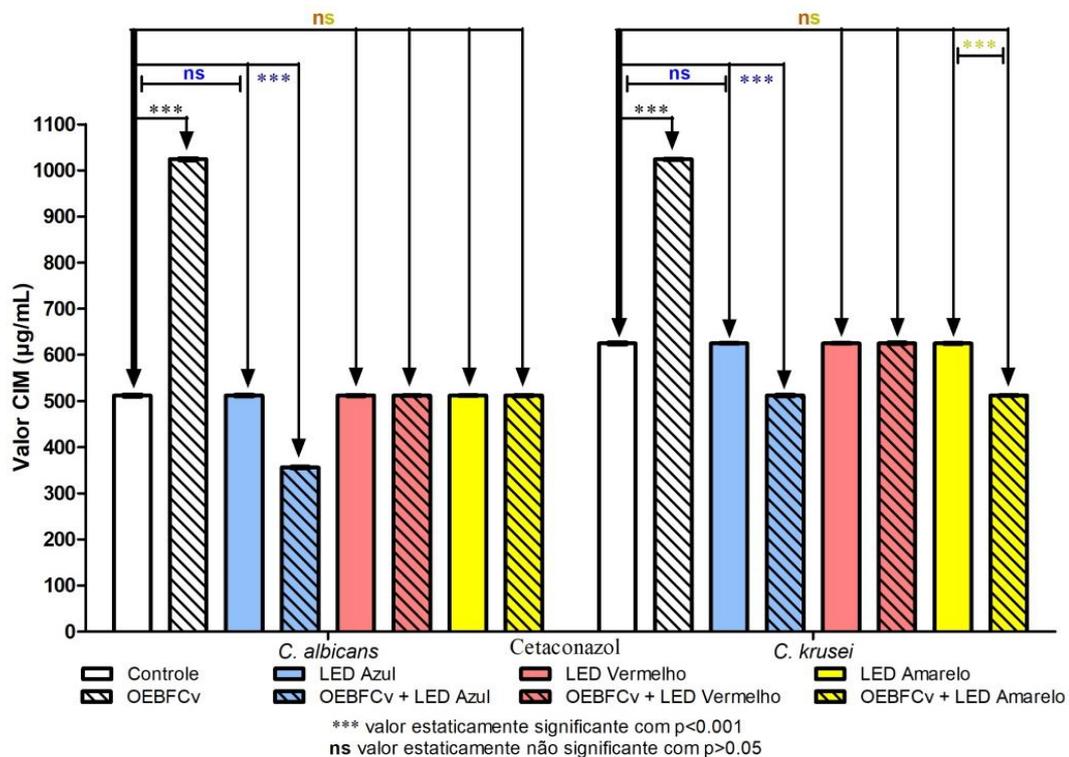
Os valores da CIM podem ser influenciados por diversos fatores, tais como a utilização do inóculo e meio de cultura altamente concentrados (BALOUIRI; SADIKI; IBNSOUDA, 2016). A origem da planta, época da coleta, preparação do produto a ser testado (a partir de plantas frescas ou secas), microrganismo e a cepa utilizada no teste, também são alguns dos fatores que podem interferir nos resultados (ELISSA et al., 2008).

Segundo Van Vuuren (2008) a volatilidade dos óleos essenciais é um fator importante que pode impactar num resultado, o qual está sujeito a diversas influências ambientais. Essa

evaporação pode ocorrer devido ao tempo de incubação e a temperatura excessiva, ocorrendo mais provavelmente quando há a utilização de fungos, visto que estes apresentam longos períodos de incubação (2-7 dias). Assim, falsos negativos ainda podem ser encontrados e a possibilidade de atividade pode ser subestimada. Além disso, a análise do método empregado no experimento da atividade antimicrobiana de produtos vegetais é fundamental.

Quanto à avaliação da atividade moduladora da resistência fúngica à cetaconazol pode-se observar que houve o aumento da CIM frente *C. albicans* e *C. krusei*, indicando efeito antagônico. Enquanto as demais combinações mostraram-se indiferentes quando associado às luzes de LED. Contudo, frente *C. krusei*, a associação do produto com as luzes amarela e azul culminou na diminuição da CIM, indicando sinergismo, bem como na combinação do OEBFCv com a luz azul do LED, frente *C. albicans*, como representado no gráfico 1.

Gráfico 1: Representação da atividade moduladora da resistência fúngica à Cetaconazol associado ao OEBFCv e luzes de LED



Fonte: autor (2018).

Alguns produtos naturais possuem a capacidade de modificar a atividade do antimicrobiano, modulando sua ação ou revertendo a resistência (TINTINO et al., 2013). Devido à composição química de alguns óleos/extratos com propriedades biológicas, pode

haver a associação com antifúngicos sintéticos, a fim de uma melhor eficácia na ação de ambos (SILVA et al., 2017).

A ação dos antifúngicos é ligada a síntese do ergosterol, e esta é prejudicada pela automedicação sem indicação médica, com isso o organismo responde de forma a desenvolver uma resistência (REZENDE, 2017). Algumas espécies de *Candida* possuem a capacidade de formar biofilmes, que também é um fator ligado ao desenvolvimento da resistência a muitos antimicrobianos utilizados em rotina no ambiente hospitalar, como anfotericina B, fluconazol, itraconazol e cetoconazol (SOUZA et al., 2016).

Os antifúngicos azólicos são bastante utilizados para o tratamento da candidíase. Porém nem sempre são bem sucedidos devido à incidência da resistência microbiana, sendo necessária a pesquisa de novos agentes antifúngicos para aumentar as alternativas de tratamento de infecções micóticas bem como minimizar o impacto da resistência (MORACE; PERDONI; BORGHI, 2014).

O Light Emithing Diodes- LED (emissor de luz) é uma alternativa fototerápica no tratamento de lesões dermatológicas. Este aparelho produz uma potência de irradiação segura, com pouco consumo de energia, vida útil longa, baixa intensidade e boa potência, fatores esses que associados à terapia antimicrobiana mostram perspectivas promissoras na reversão da resistência (LIRA et al., 2012; MOREIRA, 2009).

Segundo Pereira et al., (2017) a fototerapia por uso do LED pode vir a ser uma alternativa para o controle da atividade microbiana, visto que há a utilização de luz visível com comprimentos de ondas específicas em certas drogas fotossensíveis. Ressaltando ainda que as luzes azuis já são usadas com um efeito anti-inflamatório e antimicrobiano.

Moreira (2009) relata que mesmo que os mecanismos da atividade antimicrobiana da luz de LED em combinação com drogas ou produtos naturais ainda tenham que ser esclarecidos, já é sabido que houveram efeitos sinérgicos obtidos com a luz azul do LED e que pode ser explicado devido à indução do estresse oxidativo.

Segundo Grebenova et al (2003) o efeito da terapia com fototerapia, pode ser explicada devido a alterações bioquímicas na membrana celular e na mitocôndria (inibindo a respiração celular), culminando na dissolução da célula. O processo de divisão celular pode ser inibido bem como a inativação de enzimas responsáveis pelo aumento da permeabilidade e metabolismo celular.

Os efeitos biológicas das luzes de LED dependem do comprimento de onda, dose, intensidade e tempo de irradiação (BAROLET, 2008). Esses fatores podem ser uma possível explicação para os resultados indiferentes apresentados no presente estudo.

4. CONCLUSÃO

Considerando os dados obtidos nesse estudo, pode-se afirmar que o óleo essencial do botão floral de *Cordia verbenacea* associado às luzes de LED apresentaram efeito antifúngico clinicamente irrelevante, pelo método de microdiluição. Entretanto, houve ação modulatória, quando associado ao antifúngico cetaconazol e as luzes de LED. Dessa forma, sabendo da resistência dos fungos pertencentes ao gênero *Candida* frente aos antifúngicos atualmente utilizados, é importante a busca de novos compostos antifúngicos de origem vegetal, acrescidos de estudos toxicológicos e clínicos. O presente estudo busca estimular futuras pesquisas que aprofundem a investigação dos efeitos moduladores com o uso das luzes de LED, bem como a utilização de outras metodologias que visem esclarecer os mecanismos de ação antifúngica.

REFERÊNCIAS

- BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S.K., Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**. v. 6, n. 1, p. 71-79, 2016.
- BAROLET, D. Light-emitting diodes (LED) in dermatology. **Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery**, v.27, n.1, p.227-238, 2008.
- BARROSO, I.C.E. et al. O gênero *Cordia* L.: Botânica, química e farmacologia. **Revista Lecta**. v. 20, n. 1, p. 07- 14, 2002.
- BERALDO, J. I. et al. Estudo da atividade antifúngica de extratos vegetais de *Azadirachta indica* frente a cepa padrão de *Candida albicans* ATCC 10231. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**. v. 19, n. 1, p. 25-30, 2015.
- CLSI. M100-S25. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-fifth informational supplement**, 2015.
- COUTINHO, H. D. M. et al. Effect of *Momordicacharantia* L. in the resistance to aminoglycosides in methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**. Dis v. 33, n;1, p. 467–471, 2010.
- ELISSA, A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CIM) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.18, n.2, p.301-307, 2008.
- GREBENOVA , D. et al. Mitochondrial and endoplasmic reticulum stress- induced apoptotic pathways are activated by 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy in HL60 leukemia cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 69, p. 71-85, 2003.

JAVADPOUR, M.M. et al. De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. **Journal of medicinal chemistry**. v. 39, n. 16, p. 3107-3113, 1996.

KORELO, R. I. G. et al. Gerador de alta frequência como recurso para tratamento de úlceras por pressão: estudo piloto. **Fisioterapia em Movimento**, v. 26, n. 4, 2013.

LIMA, C.I.O. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.12, n. 2, p. 197-201, 2006.

LIRA, A. L. B. D. C. et al. Integridade da pele em idosos: revisão da literatura segundo as cartas de promoção da saúde. **Cogitare Enfermagem**. v. 17, n. 4, p.767-774, 2012.

MANDRAS, N. et al. Liquid and vapour-phase antifungal activities of essential oils against *Candida albicans* and non-*albicans Candida*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. v. 16, n.1, p. 2-7, 2016.

MARTINS, N. et al. Candidiasis: predisposing factors, prevention, diagnosis and alternative treatment. **Mycopathologia**. v. 117, n.1, p. 223-240, 2014.

MATHÉ, L; DIJCK, P.V. Recent insights into *Candida albicans* biofilm resistance mechanisms. **Current genetics**. v. 59, n. 4, p. 251-264, 2013.

MATIAS, E.F.F.M. et al. The genus *Cordia*: botanists, ethno, chemical and pharmacological aspects. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 25, n.5, p. 542-552, 2015.

MATOS, F. J. D. A. et al. Essential oil of *Mentha x villosa* Huds. from Northeastern Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 11, n. 1, p. 41-44, 1999.

MEYER, P. F. et al. Avaliação dos efeitos do LED na cicatrização de feridas cutâneas em ratos Wistar. **Fisioterapia Brasil**, v.11, n. 6, p. 428-432, 2010.

MORACE, G; PERDONI, F; BORGHI E. Antifungal drug resistance in *Candida* species. **Journal of global antimicrobial resistance**. v. 2, n.1, p. 254-259.2014.

MOREIRA, M.C. **Utilização de conversores eletrônicos que alimentam LEDs de alto brilho na aplicação em tecido humano e sua interação terapêutica**.2009. 190 f. Tese (Doutorado em engenharia elétrica). Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina-RS. 2009.

PASSOS, X.S. **Caracterização de fungos envolvidos em infecções nosocomiais**. 2007. 99f. Tese (Doutor em Medicina Tropical). Universidade Federal de Goiás Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Goiânia. 2007.

PEREIRA, J.A.S. ***Cordia verbenacea* Dc.: Perfil morfo-anatômico, histoquímico, farmacognóstico e avaliação da atividade anti-candida do extrato hidroetanólico e suas frações**. 2013. 52f. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara. 2013.

- PEREIRA, N.L.F. et al. In vitro evaluation of the antibacterial potential and modification of antibiotic activity of the *Eugenia uniflora* L. essential oil in association with led lights. **Microbial Pathogenesis**. v. 110, s/n, p. 512-518, 2017.
- PINTO, J.E.B.P.; CARDOSO, M.G.; ARRIGONI-BLANK, M.F. Estabelecimento de cultura de células em suspensão e identificação de flavonoides em *Cordia verbenacea* DC. **Embrapa Amazônia Oriental-Artigo em periódico indexado (ALICE)** v.11, n. 11, p. 7-11, 2009.
- REZENDE, C. Mecanismos de ação dos antifúngicos. **Revista UNIFEV- Ciência e tecnologia**. v.2, s/n, p.223-236. 2017.
- SILVA, I.C.G. et al. Antifungal Activity of Eugenol and its Association with Nystatin on *Candida albicans*. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**. v. 17, n.1, p. 1-8, 2017.
- SOUZA, C.M.C. et al. Antifungal activity of plant-derived essential oils on *Candida tropicalis* planktonic and biofilms cells. **Sabouraudia**. v. 54, n. 5, p. 515–523. 2016.
- TAN, X. et al. The Role of *Candida albicans* *SPT20* in Filamentation, Biofilm Formation and Pathogenesis. **PLoS One**. v. 9, n. 4, p. 1-10, 2014.
- TINTINO, S.R. et al. Atividade moduladora de extratos etanólico e hexânico de raiz de *Costus* cf. *arabicus* sobre drogas antimicrobianas. **Revista Brasileira de Biociências**. v. 11, n. 2, p. 157-162, 2013.
- VAN VUUREN, S. F. Antimicrobial activity of South African medicinal plants. **Journal of ethnopharmacology**. v. 119, n.1, p. 462-72. 2008.