



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA



**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL
DE *Mentha piperita* L. (hortelã-pimenta) SOBRE CEPAS DE *Candida
albicans***

BIANCA SANTOS BARROS

João Pessoa- PB

2017

BIANCA SANTOS BARROS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL
DE *Mentha piperita* L. (hortelã-pimenta) SOBRE CEPAS DE *Candida
albicans***

Trabalho de Conclusão de Curso submetido à
Universidade Federal da Paraíba como parte dos
requisitos básicos necessários para a obtenção do
Grau de Bacharel em Farmácia

Orientador:

Prof. Drº Felipe Queiroga Sarmiento Guerra

João Pessoa- PB

2017

B277a Barros, Bianca Santos.

Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de *mentha piperita* L. sobre cepas de *candida albicans* / Bianca Santos Barros. - - João Pessoa, 2017.

40f.: il. -

Orientador: Felipe Queiroga Sarmiento Guerra.

Monografia (Graduação) – UFPB/CCS.

1. Candida albicans. 2. Mentha piperita L. 3. Óleo essencial. 4. Atividade antifúngica. 5. Farmacologia.

BS/CCS/UFPB

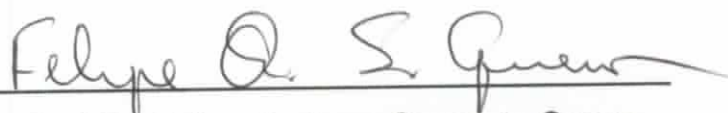
CDU: 616.97(043.2)

BIANCA SANTOS BARROS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL
DE *Mentha piperita* L. SOBRE CEPAS DE *Candida albicans***

Monografia aprovada em 28 / 11 / 17 para obtenção de título de
Farmacêutico.

Banca examinadora:



Prof. Dr. Felipe Queiroga Sarmiento Guerra
DCF/ CCS/ UFPB (Orientador)



Profa. Dra. Edeltrudes de Oliveira Lima
DCF/ CCS/ UFPB (1º MEMBRO)



Prof. Dr. Mateus Feitosa Alves
DCF/ CCS/ UFPB (2º MEMBRO)

*Dedico esse trabalho aos meus pais, Maria Socorro e Josimar Barros,
por jamais medirem esforços para a concretização desse sonho e
mesmo longe se manterem sempre presentes, sendo meus amores
incondicionais.*

AGRADECIMENTOS

“Toda honra e toda glória a ti Senhor”. Obrigada primeiramente a Deus por ter me concedido saúde, força e disposição permitindo que tudo isso acontecesse, não somente nestes anos como universitária, mas em todos os momentos da minha vida. Sem Ele, nada disso seria possível.

O nosso potencial depende da nossa força de vontade, mas acredite: **Nenhuma batalha é vencida sozinha**. Ao longo dessa vitória, tive a honra de ter pessoas maravilhosas ao meu lado, que fizeram com que esse caminho se tornasse mais fácil, que me deram a mão, me auxiliando a chegar ao meu objetivo final.

Agradeço também aos meus pais, que sempre me apoiaram, mesmo longe deles para que eu tivesse persistência pra continuar os estudos. A minha mãe Maria Socorro, que me ensinou a ser uma mulher de força, um ser humano íntegro e de fé, com caráter, coragem e dignidade para enfrentar as batalhas da vida. Que me deixou livre para seguir minhas escolhas, porém sempre me indicando o caminho correto. Ao meu pai Josimar, que me ensinou os maiores valores que se pode ter na vida, me incentivou a estudar e fez com que esse sonho se tornasse possível.

Agradeço a minha família, pelo apoio nos momentos difíceis, e pelas palavras de força me tranquilizado durante essa trajetória acadêmica.

Agradeço a minha turma farmundiça, com quem tanto aprendi e dividi experiências, vocês são pessoas maravilhosas com quem pude conviver todos esses anos, sem dúvida alguma vocês são bênçãos de Deus em minha vida. Em particular meu grupinho (Namíbia, Valgricia, Thaynara, Alzimary e Nayara) por serem mais que amigas, verdadeiras irmãs com quem posso contar a qualquer momento. Amo vocês!

Ao meu orientador Felipe, pelo suporte, apoio e paciência, no pouco tempo que lhe coube, pelas suas correções e incentivos. Muito obrigada.

Por último, mas não menos importante, agradeço a todos os professores da Universidade Federal da Paraíba que foram incansáveis na hora de ensinar, mostrando todo seu amor pela profissão escolhida. Em especial a minha banca examinadora (Edeltrudes e Mateus) por ter aceito o convite, e ter contribuído de maneira a deixar esse trabalho mais enriquecedor.

RESUMO

A incidência de infecções causadas por leveduras em humanos aumentou durante as últimas décadas, especialmente de forma oportunista em indivíduos imunocomprometidos, como pacientes transplantados, oncológicos, e com doenças degenerativas. Dentre estas leveduras, as espécies do gênero *Candida* são os patógenos mais importantes, sendo a *Candida albicans* a espécie mais prevalente e, também, a mais patogênica. Sua patogenicidade está fortemente relacionada aos seus mecanismos de virulência, como polimorfismo e formação de biofilme, que facilitam o desenvolvimento da infecção e dificultam o tratamento. Dessa forma, vêm sendo praticado estudos com destaque na busca de novos produtos naturais que possuem atividade antifúngica atrelada a uma baixa toxicidade ao hospedeiro. Sendo assim, o objetivo desse estudo é avaliar a atividade antifúngica *in vitro* do óleo essencial de *Mentha piperita* L. (hortelã-pimenta) frente as cepas de *Candida albicans*. Para tal foi determinada a CIM (Concentração Inibitória Mínima) e a CFM (Concentração Fungicida Mínima) do referido óleo essencial, pela técnica de microdiluição. O composto *Mentha piperita* L., apresentou uma CIM variando de 512 µg/mL a 1024 µg/mL em 80% das cepas estudadas, sendo mais sensíveis as cepas: LM-398, LM-681 e LM-397; que apresentaram uma CIM de 256 µg/mL. Demonstrando que o produto avaliado apresentou moderada atividade antifúngica frente às cepas de *C. albicans*, com exceção das LM-398, LM-681 e LM-397, que exibiram forte atividade antifúngica. Os antifúngicos anfotericina B e fluconazol também foram testados. A anfotericina B apresentou uma CIM de 0,5 µg/mL em 70% das cepas testadas, com exceção das cândidas LM 37, LM 397, LM 672 que apresentaram uma CIM de 1,0 µg/mL, mostrando-se um pouco mais resistente quando comparada com as demais. Em relação ao fluconazol, o antifúngico não demonstrou atividade inibitória sobre a maior parte das cepas testadas, onde nota-se que 60% das cepas obtiveram uma CIM ≥ 16 , com exceção da ATCC 60193, LM 672, LM 26 que apresentaram uma CIM de 1,0 µg/mL e da LM 397 que foi 8,0 µg/mL. Com isso conclui-se que os compostos químicos ativos presentes em *M. piperita* certamente deve encontrar um lugar no tratamento de infecções, uma vez que o óleo essencial apresentou moderada atividade antifúngica contra a grande maioria das cepas de *C. albicans* ensaiadas.

Palavras chave: *Candida albicans*, *Mentha piperita* L., óleo essencial, atividade antifúngica

ABSTRACT

The incidence of yeast infections in humans has increased over the last few decades, especially opportunistically in individuals with the immunocompromised system, such as transplant patients, oncologists, and degenerative diseases. Among these yeasts, the *Candida* species are the most important pathogens, and *Candida albicans* is the most prevalent and also the most pathogenic species. Its pathogenicity is strongly related to its virulence mechanisms, such as polymorphism and biofilm formation, which facilitate the development of infection and make treatment difficult. In this way, studies have been practiced with emphasis on the search for new natural products that have antifungal activity linked to a low toxicity to the host. Therefore, the objective of this study is to evaluate the in vitro antifungal activity of *Mentha piperita* L. (peppermint) essential oil against *Candida albicans* strains. For this, the MIC (Minimal Inhibitory Concentration) and CFM (Minimal Fungicide Concentration) of said essential oil were determined by the microdilution technique. *Mentha piperita* L. showed a MIC ranging from 512 $\mu\text{g} / \text{mL}$ to 1024 $\mu\text{g} / \text{mL}$ in 80% of the studied strains, being the most sensitive strains: LM-398, LM-681 and LM-397; who had an MIC of 256 $\mu\text{g} / \text{mL}$. Demonstrating that the evaluated product had moderate antifungal activity against *C. albicans* strains, except for LM-398, LM-681 and LM-397, which exhibited strong antifungal activity. Amphotericin B and Fluconazole antifungal agents were also tested, Amphotericin B showed a MIC of 0.5 $\mu\text{g} / \text{mL}$ in 70% of the strains tested, except for the *Candida* LM 37, LM 397, LM 672 that presented a MIC of 1.0 $\mu\text{g} / \text{mL}$, showing a little more resistance when compared to the others. Regarding Fluconazole, the antifungal showed no inhibitory activity on most of the strains tested, where it was observed that 60% of the strains had a MIC of ≥ 16 , except ATCC 60193, LM 672, LM 26 that presented a MIC of 1.0 $\mu\text{g} / \text{mL}$ and LM 397 which was 8.0 $\mu\text{g} / \text{mL}$. This concludes that the active chemical compounds present in *M. piperita* should certainly find a place in the treatment of infections, since the essential oil presented moderate antifungal activity against the great majority of strains of *C. albicans* tested.

Keywords: *Candida albicans*, *Mentha piperita* L., essential oil, antifungal activity

LISTA DE ABREVIATURAS

ATCC: American Type Culture Collection

C. albicans: *Candida albicans*

CFM: Concentração Fungicida Mínima

CIM: Concentração Inibitória Mínima

DMSO: Dimetilsulfóxido

EPS: Elementos poliméricos extracelulares

ISO: International Standard Organization

M. piperita L: *Mentha piperita* Linnaeus

OEs: óleos essenciais

RPMI: Roswell Park Memorial Institute

sp: espécie

spp: espécies

UTI: Unidade de terapia intensiva

µg/mL: microgramas por mililitro

µg: micrograma

mL: mililitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	11
2.1 CANDIDÍASE.....	11
2.2 FATORES DE VIRULÊNCIA.....	12
2.3 DIFICULDADES NO TRATAMENTO E RESISTÊNCIA ANTIFÚNGICA.....	15
2.4 <i>Mentha piperita</i> L.....	16
3 OBJETIVOS.....	20
3.1 OBJETIVO GERAL.....	20
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	21
4.1 TIPO DE ESTUDO.....	21
4.2 LOCAL DA PESQUISA.....	21
4.3 ÓLEO ESSENCIAL.....	21
4.4 ANTIFÚNGICOS LICENCIADOS.....	21
4.5 MICRO-ORGANISMOS.....	21
4.6 INÓCULO.....	21
4.7 MEIOS DE CULTURA.....	22
4.8 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIFÚNGICAS <i>in vitro</i>	22
4.8.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	22
4.8.2 Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM).....	23
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
7 CONCLUSÃO.....	27
REFERÊNCIAS.....	28

1 INTRODUÇÃO

Infecções humanas, especialmente aquelas envolvendo a pele e mucosas constituem um grave problema, especialmente em países em desenvolvimento, tropicais e subtropicais, sendo os fungos dermatófitos e a levedura *Candida* spp os patógenos mais presentes (DUARTE, 2006; PORTILLO et al., 2001).

Candidíase ou candidose, remete-se as infecções causadas por leveduras do gênero *Candida*. As micoses causadas por esses fungos exibem um amplo espectro de apresentações clínicas, podendo ser classificadas desde superficiais, com acometimento cutâneo e mucoso, até infecções profundas, disseminadas, de alta gravidade, como é o caso da candidemia (GIOLO; SVIDZINSKI, 2010).

A frequência de infecções por espécies de *Candida* tem aumentado nas últimas décadas, deixando a candidemia em quarto lugar entre as infecções mais adquiridas em ambiente hospitalar (VOSS et al., 2001; ZARDO; MEZZARI, 2004). O aumento das infecções por *Candida* spp. se deve a fatores como tratamentos com antifúngicos de amplo espectro, uso de nutrição parenteral, cateteres intravenosos, intubação endotraqueal e outros. A maior ocorrência acontece em pacientes com predisposição de base como: recém-nascidos, patologia oncológica, quimioterapia, terapia imunossupressora e pacientes submetidos a cirurgias de grande porte (ZARDO; MEZZARI, 2004).

De acordo com Colombo e Guimarães (2003), o mecanismo prevalente para a transmissão da candidemia é por via endógena, em que espécies de *Candida* que formam a microbiota de diversos sítios anatômicos, comportam-se como patógenos oportunistas, devido alterações nos mecanismos de defesa do hospedeiro (GIOLO; SVIDZINSKI, 2010). Outro mecanismo de transmissão ocorre por via exógena, especialmente por manuseio de profissionais da saúde que tratam dos pacientes, também estão relacionados os materiais médico-hospitalares, principalmente cateteres e soluções intravenosas que estejam contaminadas por fungos (EGGIMAN et al., 2003; GIOLO; SVIDZINSKI, 2010).

Uma preocupação constante na área da micologia é o crescente número de fungos com resistência farmacológica frente aos poucos antifúngicos existentes, produzindo um sério problema de saúde, pois, tem acarretado diversos surtos de

infecções seguidos de morte. A resistência *in vitro* em relação aos antifúngicos ainda é muito baixa, sendo primária em pouquíssimos casos. Todavia, o uso de antifúngicos como medida profilática em pacientes com maior risco de desenvolver infecções fúngicas invasivas, tem alterado o perfil das leveduras (COLOMBO et al., 2006; TALARMIN et al., 2009; GIOLO; SVIDZINSKI, 2010).

As três classes de antifúngicos mais utilizados atualmente no tratamento da candidose são: os polienos (nistatina e anfotericina B), os imidazóis (clotrimazol e miconazol) e os triazóis (fluconazol e itraconazol) (PAIVA et al., 2009). A utilização deliberada destes fármacos acabou por facilitar casos de resistência dos patógenos aos agentes antimicóticos, como por exemplo, a resistência ao fluconazol, enquanto outros destes agentes acabam por ter seu uso limitado devido efeitos colaterais provados no hospedeiro, como a nefrotoxicidade causada pela anfotericina B (BERDICHEVSKI, 2003). A solução para sanar os problemas de resistência talvez resida na busca por novos alvos para eliminar o patógeno e na associação entre fármacos, que pode potencializar a ação dos fármacos comuns na clínica (CARILLO-MUÑOZ et al., 2014; PINHEIRO, 2016).

Nesta perspectiva, diversos estudos vêm sendo praticado com destaque na busca de novos produtos naturais ou até mesmo sintéticos que possuam atividade antifúngica atrelada a uma baixa toxicidade ao hospedeiro (ANAISSE, 1992; EDWARDS; FILLER, 1992; GRAYBILL, 1992; LIMA et al., 2006)

Algumas espécies vegetais têm sido utilizadas, pelas propriedades antimicrobianas, através de compostos sintetizados pelo metabolismo secundário da planta, que são reconhecidos por suas substâncias ativas, como é o caso dos compostos fenólicos e taninos (NASCIMENTO et al., 2000). Outros estudos mostram que, alguns metabólitos secundários quando utilizados com antibióticos, os mesmos podem potencializar a ação dessas drogas, restaurando assim a atividade antibiótica (MARQUEZ et al., 2005; OLIVEIRA SOUZA et al., 2014).

Diante dos relatos de resistência frente a cepas de *Candida spp.* e da alta toxicidade de alguns medicamentos antifúngicos, tais fatos estimulam a pesquisa por um novo antifúngico sobre fungos potencialmente patogênicos e oportunistas, tornando relevante a proposta desse trabalho, de forma a contribuir para o

aprimoramento científico. Com isso, o objetivo do mesmo é avaliar a eficácia do óleo de *Mentha piperita* contra cepas de *Candida albicans*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Candidíase

Candida é uma levedura que pertence a microbiota normal tanto do corpo humano quanto de animais, ela coloniza a pele e mucosas do trato digestivo, urinário, vaginal e bucal. Nos dias de hoje, existe em torno de 200 leveduras incluídas no gênero *Candida*, sendo pouco mais de 20 espécies responsáveis por infecções no homem (SILVA, 2011). Entre as espécies que fazem parte desse gênero, a *Candida albicans* mostra-se com maior magnitude em função de sua taxa de predominância em condições normais e patológicas (KURTZMANN; FELL, 1998; ODDS et al., 1998, ROSA; RUMEL, 2004; ÁLVARES; SVIDZINSKI; CONSOLARO, 2007).

Essas leveduras colonizam as mucosas de todos os seres humanos no decorrer ou pouco depois do nascimento, havendo sempre o risco de infecção endógena (BROOKS et. al., 2000). O delicado balanço entre o hospedeiro e esse fungo comensal pode transformar-se em uma relação parasitária, caso haja um desequilíbrio nos mecanismos de defesa ou fatores externos, como por exemplo, o uso de antimicrobianos, que podem alterar a flora normal desenvolvendo assim infecções (CHAFFIN et al., 1998; ÁLVARES; SVIDZINSKI; CONSOLARO, 2007).

A maioria dos estudos mostram que a *Candida albicans* é a espécie mais comum causadora de infecção no ser humano, constituindo 60% dos isolados de amostras clínicas, uma vez que esta levedura faz parte da microbiota normal (BARBEDO; SGARBI, 2010). Outras espécies também podem ser infecciosas, no entanto, com menor frequência (PEIXOTO et al., 2014).

O uso de antimicrobianos de amplo espectro em pacientes de internação hospitalar, principalmente UTI (Unidade de terapia intensiva), como cateteres intravenosos e ureterais, procedimentos invasivos, insuficiência renal e nutrição

parenteral, constituem fatores de risco para infecções graves por *Candida*. As manifestações clínicas causadas por espécies dessa levedura são variadas, podendo desencadear desde uma infecção localizada de mucosas, até uma doença disseminada potencialmente fatal. O principal fator que determina o tipo e extensão dessa infecção é a resposta imunológica do paciente (PEIXOTO et al., 2014).

As formas de manifestação da candidíase são praticamente de três tipos: mucocutânea, cutânea e sistêmica (MENEZES et al., 2004). A candidíase mucocutânea acomete tanto a cavidade oral quanto o canal vaginal, sendo a forma mais frequente nos seres humanos. Já a forma cutânea pode envolver áreas úmidas do corpo como: espaços interdigitais, regiões das mamas, axilas, pregas das virilhas, debaixo de unhas. Em neonatos, o uso de fraldas pode causar erupções, que é bastante comum na forma cutânea (KONEMAN et al., 2008; MENEZES et al., 2004; COUTO; CARLOS; MACHADO, 2011).

Já a forma disseminada/sistêmica é rara, acontece quando a infecção ocorre no sangue e neste caso pode disseminar para múltiplos órgãos como: pulmões, meninges, rins, bexiga, articulações, fígado, coração e olhos (ARAÚJO; SCHACHNER, 2006; KAUFMAN et al., 2001; KONEMAN et al., 2008; COUTO; CARLOS; MACHADO, 2011) ocorrendo principalmente em pacientes em fase terminal, com doenças debilitantes, neoplásicas, doenças imunossupressivas e após transplantes de órgãos (GROSSI, 2009; COUTO; CARLOS; MACHADO, 2011).

2.2 Fatores de Virulência

A capacidade de causar doença é mediada por inúmeros fatores, entre os mais importantes está a patogenicidade ou virulência de um micro-organismo. Apesar de alguns aspectos da virulência serem determinados geneticamente, eles são expressos pelos micro-organismos apenas quando encontram circunstâncias ambientais favoráveis, tais como teor nutricional, oxigênio e temperatura, sendo essas condições específicas para cada micro-organismo e para cada isolado de determinado agente, podendo variar de hospedeiro para hospedeiro, e até diferentes tecidos de um mesmo hospedeiro (GHANNOUM; ABU-ELTEEN, 1990; ÁLVARES; SVIDZINSKI; CONSOLARO, 2007)

Até alguns anos atrás, *Candida albicans* era a espécie de maior valor clínico, no entanto, juntamente com o aumento geral das candidemias observou-se o crescimento das infecções de corrente sanguínea por espécies de *Candida não-albicans* como: *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. guilhermondii* e *C. lusitaniae* (COLOMBO et al., 2003). As razões para essa mudança no padrão de classificação das espécies ainda não foram completamente elucidadas, podendo estar vigorosamente relacionadas com o potencial de virulência destes micro-organismos (COLOMBO et al., 2003; CHENG et al., 2005; TAMURA et al., 2007).

Quando ocorre alteração no sistema imunológico do hospedeiro, isto é, a quebra do equilíbrio entre as leveduras do gênero *Candida* e a microbiota da qual ela faz parte, aumenta-se o fator de risco para o desenvolvimento da candidíase. Esse fungo leveduriforme, possui como principais fatores de virulência: aderência, pleomorfismo, variabilidade fenotípica (“switching”), produção de toxinas e enzimas extracelulares (RIBEIRO et al., 2004), fatores estes que agravam ainda mais o estado de saúde do paciente.

Aderência

Os componentes da parede celular das leveduras do gênero *Candida* como glucano, manoproteína e quitina, não possuem apenas a função de dar a forma estrutural à célula, é um pré-requisito para a colonização de um determinado sítio e posterior causa da infecção (CALDERONI; FRONZI, 2001). Essas proteínas existentes na parede fúngica, designadas adesinas permitem a sua aderência aos aminoácidos (fibrinogênio, fibronectina e laminina) e açúcares presentes nos tecidos humanos (YANG, 2003). As espécies de *Candida* podem se aderir a materiais médicos como o cateter, formando biofilmes. A formação destes biofilmes facilitam infecções sanguíneas por estes micro-organismos. Além do mais, é sabido que biofilmes possivelmente alterem a suscetibilidade dos fungos aos diferentes antifúngicos, tornando-os resistentes a terapêutica usual (CHANDRA et al., 2001; SILVA, 2011).

Pleomorfismo

Outro fator, como o pleomorfismo, confere à *Candida* a passagem de fungo comensal para fungo patogênico, através da transição de fungo leveduriforme para filamentoso, conferindo ao fungo um poder mais alto de penetração nos tecidos, como também a produção de biofilmes (MELO; GUERRA, 2014), os quais são formados por micro-organismos que crescem de maneira aglomerada, normalmente em superfícies, embebidos em uma matriz de elementos poliméricos extracelulares (EPS) de sua própria natureza que compõem a sua matriz (BREMER et al., 2011; CUNHA et al., 2015).

As formas mais virulentas referem-se as hifas, que provavelmente ocorre devido ao estresse ambiental sofrido pela *C. albicans* (CALDERONI; FRONZI, 2001; ODDS, 1994), já a pseudo-hifa é outra estrutura morfológica notada em *C. albicans*, que é produzida durante sua reprodução por brotamento, quando os brotos não se despregam da célula-mãe, ocasionando, então, um encadeamento de células, cuja forma assemelha-se a uma hifa (ALMEIDA; SCULLY, 2002; PONTES, 2016).

O tubo germinativo é um alongamento contínuo da célula-mãe leveduriforme produzido no começo do processo de filamentação, sendo classificado como uma forma de mudança entre a levedura e o micélio verdadeiro. Estudos propõem que cada uma dessas formas colaboram para a virulência de *C. albicans* sobre os tecidos vivos dos hospedeiros (KUMAMOTO e VINCES, 2005; PONTES, 2016).

Variabilidade fenotípica (“switching”)

O “switching” revela a modificação fenotípica na estrutura e forma das colônias de *C. albicans*, entre branca e opaca. Geralmente existem diversas diferenças entre as colônias que apresentam “switching” e as demais, variabilidade genotípica, incluindo modificação no formato, estruturas de superfície celular e germinação a 37°C, que parecem as tornarem mais virulentas (CALDERONI; FONZI, 2001; ÁLVARES; SVIDZINSKI; CONSOLARO, 2007).

Produção de toxinas e enzimas extracelulares

As leveduras são capazes de secretar enzimas extracelulares que destroem as membranas celulares do hospedeiro, favorecendo posterior invasão tecidual. As

principais enzimas produzidas tanto por *C. albicans*, quanto *não albicans* são as fosfolipases e proteinases (PONTES, 2016).

As fosfolipases são um grupo de enzimas cuja secreção, em *C. albicans*, é regulada pelo gene PLB1. Esta expressão é afetada por fatores nutricionais, condições do ambiente (temperatura e pH) e fase de crescimento da levedura. Fosfolípidios presentes na membrana das células humanas e animais são os substratos (OMBRELLA; RACCA; RAMOS, 2008).

A produção de fosfolipases concentra-se nas extremidades das hifas e a atividade de produção é maior quando a hifa está em contato direto com a membrana, o que sugere que essas enzimas são importantes na invasão tecidual por *C. albicans* (GHANNOUM; ABU-ELTEEN, 1990; NIEWERTH; KORTING, 2001).

Apesar do seu papel na patogênese de algumas doença não ter sido esclarecido, sabe-se que as fosfolipases podem estar envolvidas na invasão tecidual por degradar fosfolípidios, causando a morte da célula do hospedeiro (SAMARANAYAKE et al., 2006). De acordo com Oksuz et al. (2007), a capacidade de *Candida* spp. provocar infecção é devido à produção de múltiplas enzimas, dentre elas, as proteinases e as fosfolipases. Diversos estudos têm demonstrado a relação entre o aumento na síntese e a atividade das enzimas extracelulares fosfolipases e proteinases, levando a quadros clínicos de candidíases mais graves (CORREA et al., 2010).

2.3 Dificuldades no tratamento e resistência antifúngica

Para um tratamento antifúngico ser considerada adequado, deve ser levado em conta o micro-organismo envolvido, a situação imunológica do paciente e o local acometido. A maior limitação na elaboração de antifúngicos refere-se a característica dos fungos, que por serem micro-organismos eucariotos apresentam alvos celulares bastante restrito, dificultado a ação de antifúngicos específicos e a baixa toxicidade às células do hospedeiro (SOARES et al., 2013; MURRAY et al., 2014; DELARZE; SANGLARD, 2015; SCHERER, 2017).

A resistência a fármacos antifúngicos é um acontecimento cada vez mais recente, e pode ser conceituada como a permanência patológica da infecção mesmo

com o uso do medicamento (SILVA et al., 2012; KUMAR et al., 2015; CAMPOS, 2017). A resistência antifúngica pode ser de dois tipos: inerente, quando está presente sem exposição prévia ao antifúngico, ou adquirida que é destinado aquele grupo que anteriormente apresentava sensibilidade, porém, devido ao uso recorrente do antifúngico, o mesmo adquiriu resistência (MARTINEZ-ROSSI; ROSSI, 2008; DELARZE; SANGLARD, 2015; SCHERER, 2017).

As infecções fúngicas são de complexo tratamento, devido ao fato de seus agentes etiológicos adquirirem resistência frente à ação de antifúngicos (ARAÚJO et al., 2004). Martinez-Rossi e colaboradores (2008) julgam um antifúngico eficaz, quando o mesmo for uma combinação de largo espectro e mínima ou nenhuma toxicidade (SCHERER, 2017).

Com o uso indevido alguns antifúngicos estão perdendo rapidamente sua eficácia, o que se faz necessário o desenvolvimento de novos medicamentos e técnicas eficazes de manejo. Nos últimos anos, tem havido grande interesse científico em química e estudos farmacológicos das propriedades biológicas de plantas medicinais (COUTINHO et al., 2008a). Várias plantas têm sido estudadas e avaliadas não apenas para comprovar seu potencial antifúngico de forma direta, mas também como fontes de substâncias capazes de alterar a ação antifúngica (GIBBONS, 2004; GURIB-FAKIM, 2006; TINTINO; GUEDES, G.M.; GUEDES, F.A.B., 2013).

2.4 *Mentha piperita* Linnaeus

Na tentativa de inserção de novos agentes antifúngicos, as plantas medicinais merecem ênfase por serem utilizadas vastamente na medicina popular ao longo de séculos. Com isso, esses produtos naturais podem servir como fonte de novas moléculas com propriedades antifúngicas (PIERCE et al., 2015; CAMPOS, 2017).

O gênero *Mentha*, proveniente da região do Mediterrâneo e leste da Ásia Central, pertence à família Lamiaceae (ou Labiatae), constitui uma das principais famílias representantes de plantas medicinais e uma das maiores dentre todas as Angiospermas, seu valor é reconhecido, especialmente, pela produção de óleos essenciais para fins terapêuticos, cosméticos e alimentícios, devido à presença de

tricomas glandulares em sua anatomia (FERREIRA, 2008; FIORITO, 2016). Refere-se a um dos gêneros mais complexos do reino vegetal, devido à grande diversidade de híbridos resultantes de cruzamentos naturais entre as espécies, findando cerca de 30 espécies existentes, representadas por plantas conhecidas pela população como: hortelãs, cujas as partes de maior importância econômica são as folhas e caules, encontrando-se entre os dez óleos essenciais mais vendidos do planeta (FERREIRA, 2008; GARLET et al., 2011; RIACHI; DE MARIA, 2015; FIORITO, 2016).

As espécies da família Lamiaceae, pelo rico grau em óleos essenciais, têm sido grandemente pesquisadas e estudadas tanto sob o ponto de vista agrônomo quanto químico, não somente pelo fato de potencializar seu conteúdo em óleo essencial, como também à variação dos constituintes importantes desses óleos (MARTINS, 1998; VALMORBIDA et al., 2006). A *Mentha piperita* L., popularmente chamada de hortelã, hortelã-pimenta, menta e hortelã-apimentada, é uma erva aromática, com aproximadamente 30 cm de altura e semiereta, do qual partem ramos que variam desde o verde escuro ao roxo púrpureo e as folhas são oval-alongadas, denteadas e pubescentes (LORENZI; MATOS, 2002; VALMORBIDA et al., 2006).

O conhecimento e as análises populares sempre são levadas em conta para norteamento de possíveis utilidades terapêutica das plantas medicinais, apesar de que na maioria das vezes não se sabe totalmente os seus constituintes químicos. Deste modo, a prática do consumo de fitoterápicos ainda se mantém por todo o mundo, através de usuários de plantas medicinais, tornando aceita algumas especialidades terapêuticas que foram sendo observadas durante um longo período de tempo, e que até hoje são repassadas de geração a geração (MACIEL et al., 2002; ALVES et al., 2014).

Os óleos essenciais são responsáveis por parte das propriedades bioativas das plantas aromáticas do gênero *Mentha*, que conforme a International Standard Organization (ISO) são definidos como produtos voláteis de origem vegetal obtidos por processo físico (destilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida ou outro método adequado). São misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas (SIMÕES E SPITZER, 1999;

MALHEIROS, 2014). Quimicamente, os 18 óleos essenciais de *Mentha sp.* apresentam uma grande diversidade, entretanto são os monoterpenos (mentol, mentona, carvona, linalol e acetato de linalila) os componentes de maior valor econômico (GARLET et al., 2007; SANTOS et al., 2012; DESCHAMPS et al., 2013). Bassolé et al. (2010) diferenciou no óleo essencial de *M. piperita* 17 constituintes químicos, os essenciais correspondem ao mentol (39,3%) e mentona (25,2%). (MALHEIROS, 2014)

M. piperita, embora seja nativa da Europa, é cultivada no mundo inteiro, já que possui grande uso tanto na alimentação, como em produtos destinados a terapêutica tratamentos estéticos (ISCAN et al., 2002; GARLET et al., 2007). Tal importância econômica refere-se ao fato de que extrato e óleo essencial de *M. piperita* possuem atividades antimicrobianas contra várias cepas de bactérias, tais como: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, entre outras (ISCAN et al., 2002; YDEGARINIA et al., 2006). E também por possuir propriedades antiinflamatórias, antiespasmódica, antiemética e analgésica (ISCAN et al., 2002; TAMPIERI et al., 2005; BETONI et al., 2006; MALHEIROS, 2014).

Os óleos essenciais são populares devido possuírem caráter hidrofóbico, o que lhe confere uma maior interação com estruturas lipídicas, facilitando a permeabilidade celular, propiciando danos irreversíveis à célula (NASCIMENTO et al., 2007; ALMEIDA et al., 2012). A eficácia de *M. piperita* também foi descrita contra *Candida albicans* (AHMAD E BEG, 2001; ISCAN et al., 2002; SARTORATTO et al., 2004; MATOS et al., 2009; MALHEIROS, 2014). Vidal et al. (2007) demonstraram atividade anti-giardia, tanto *in vitro* como *in vivo*, de extrato e frações de *M. piperita* (MALHEIROS, 2014). Extrato alcoólico e óleo de *M. piperita* possuem atividade antihelmíntica (GIRME et al., 2006; NIKESH et al., 2011; MAGGIORE et al., 2012; MALHEIROS, 2014).

A importância de estudar, investigar e pesquisar as plantas medicinais vem aumentando bastante entre os pesquisadores, devido ao fato de existir uma enorme busca por novos fitoterápicos partindo de conhecimento populares já conhecidos e aplicados, afim de desenvolver experimentos patrocinados por empresas farmacêuticas que estejam buscando o desenvolvimento de novos elementos que

contenham ações farmacológicas. Acredita-se que no futuro elas podem ser a cura e/ou fazerem parte do tratamento para muitas doenças (BARBOSA-FILHO et al.,2007; BARBOSA-FILHO et al.,2008; BIAVATTI, et al.,2007; COUTINHO et al., 2008b; ALVES et al., 2014). Além disso, com o aumento e propagação de micro-organismos resistentes, vários extratos de origem vegetal estão sendo testados, com o objetivo de conseguir novos agentes antifúngicos capazes de atuarem no combate e/ou controle dos mesmos (PENHA et al., 2011; ALVES et al., 2014).

O aumento da incidência de micro-organismos resistentes aos antifúngicos já existentes, explicam essa busca por compostos terapêuticos que apresentem eficácia elevada e menor toxicidade. Dentro dessas circunstâncias, os óleos essenciais apontam uma meta bastante promissora, a presença de monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanoides e outros compostos voláteis em sua constituição, atesta aos óleos essenciais certas atividades biológicas, entre elas estão: antiparasitárias, antimicrobianas e antifúngicas (SARTO; JUNIOR, 2014; SCHERER, 2017).

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

- ✓ Avaliar a atividade antifúngica *in vitro* do óleo essencial de *Mentha piperita* L. (hortelã-pimenta) frente as cepas de *Candida albicans*

3.2 ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e fungicida mínima (CFM) do óleo essencial de *M. piperita* sobre as cepas de *C. albicans*.
- ✓ Verificar a concentração inibitória mínima (CIM) dos antifúngicos licenciados sobre as cepas de *C. albicans*.
- ✓ Comparar os antifungicos licenciados com o óleo de *M. piperita*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de uma pesquisa experimental, exploratória, transversal, de natureza aplicada, pautada na abordagem quantitativa. A fundamentação teórica foi construída com argumentos bibliográficos por artigos, livros, monografias, dissertações de mestrado e doutorado.

4.2 LOCAL DA PESQUISA

O trabalho foi realizado no Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas, do Centro de Ciências da Saúde (CCS), da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

4.3 ÓLEO ESSENCIAL

O óleo essencial de *Mentha piperita* L. foi adquirido na Empresa Ferquima Indústria e Comércio Ltda. (Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brasil).

4.4 ANTIFÚNGICOS LICENCIADOS

Os produtos utilizados na execução das metodologias foram adquiridos da Sigma-Aldrich®. Os fármacos de escolha foram anfotericina B e fluconazol comumente utilizados como produtos de escolha para o tratamento de infecções por *Candida* spp. As soluções também foram preparadas no momento de execução dos testes.

4.5 MICRO-ORGANISMOS

Foram utilizadas dez cepas de *C. albicans* (ATCC-60193, LM-398, LM-681, LM-37, LM-397, LM-685, LM-672, LM-269, LM-127, LM- 26) do acervo do Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba.

4.6 INÓCULO

Para preparação dos inóculos, as cepas de *Candida* spp. foram semeadas em ágar batata (AB), e incubadas à 35-37 °C por 24-48 horas. Colônias desta cultura foram suspensas em solução de NaCl 0,85% estéril e ajustadas de acordo com o

padrão de 0,5 McFarland para os ensaios de identificação e susceptibilidade antifúngica automatizados e 0,5 de McFarland ($1-5 \times 10^6$ UFC/mL) para os demais experimentos (CLEELAND SQUIRES, 1991; HADACEK & GREGER, 2000).

4.7 MEIOS DE CULTURA

Os meios de cultura utilizados nos ensaios para avaliação da atividade antifúngica foram o meio sólido ágar batata (AB) e o meio líquido RPMI 1640 (*Roswell Park Memorial Institute*) adquiridos da Difco®, preparado de acordo com as instruções do fabricante. Os meios foram solubilizados com água destilada e esterilizados em autoclave, a 121°C por 15 minutos.

4.8 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIFÚNGICAS *IN VITRO*

4.8.1 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 em forma de “U” e em duplicata (CLEELAND & SQUIRES, 1991; HADACEK; GREGER, 2000; SAHIN et al., 2004; MOREIRA et al., 2010). Em cada orifício da placa, foi adicionado 100 µL do meio líquido RPMI 1640 duplamente concentrado. Posteriormente, 100 µL da solução dos produtos, também duplamente concentrado, foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. E por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, foram obtidas concentrações de 1024 µg/mL até 16 µg/mL, de modo que na primeira linha da placa se encontrará a maior concentração e na última, a menor concentração. Por fim, foi adicionado 10 µL do inóculo das cepas nas cavidades, onde cada coluna da placa refere-se a uma cepa fúngica, especificamente.

Um controle de micro-organismo foi realizado colocando-se nas cavidades 100 µL do mesmo RPMI duplamente concentrado, 100 µL de água destilada estéril e 10 µL do inóculo de cada espécie. Um controle de esterilidade também foi realizado, onde será colocado 100 µL do RPMI em um orifício sem a suspensão dos fungos. As placas foram seladas e incubadas a 25-28°C por até 72 horas para ser realizada a leitura. Paralelamente, foi realizado o mesmo experimento com o antifúngico anfotericina B e o fluconazol, o qual foi testado nas mesmas concentrações dos produtos.

Define-se a 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. Os ensaios foram realizados em duplicata e o resultado expresso pela média aritmética das CIM's obtidas nos dois ensaios.

4.8.2 Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM)

A concentração fungicida mínima (CFM) do óleo essencial de *M. piperita* também foi determinada para as dez cepas de *C. albicans*. Após a leitura da CIM em 48 horas, alíquotas de 20 µL serão retiradas de cada poço da placa de microdiluição que não apresentaram crescimento fúngico, e transferidas para poços de uma nova placa de microdiluição contendo 100 µL de RPMI, desprovidas de qualquer antifúngico. As placas inoculadas foram assepticamente fechadas e incubadas a 35 °C, e as CFMs foram registradas após 48 h. A CFM foi definida como a menor concentração dos óleos essenciais que resultou em inibição visível do crescimento do micro-organismo (PEREIRA, 2011).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse estudo, o método utilizado para determinar a CIM e CFM foi o de microdiluição, embora recentemente existirem vários métodos que possam ser utilizados para avaliar a atividade antifúngica de produtos naturais, entre eles o difusão em ágar e macrodiluição. A preferência pelo método de microdiluição foi empregada por ser uma técnica simples, de rápida avaliação, econômica e ter uma alta reprodutibilidade, além de permitir a utilização de pequenas quantidades de meio de cultura e diversas cepas fúngicas (CLEELAND; SQUIRES, 1991; ELOFF, 1998).

O composto *M. piperita*, apresentou uma CIM variando de 512 µg/mL a 1024 µg/mL em 80% das cepas estudadas, sendo mais sensíveis as cepas: LM-398, LM-681 e LM-397; que apresentaram uma CIM de 256 µg/mL. Segundo Sartoratto et al., 2004, produtos com CIM entre 50 e 500 µg/mL exibem forte atividade antifúngica, entre 600 e 1500 µg/mL moderada atividade antifúngica, e acima de 1500 µg/mL fraca atividade antifúngica. Segundo esta classificação, o produto avaliado no

presente estudo apresentou moderada atividade antifúngica frente às cepas de *C. albicans*, com exceção das LM-398, LM-681 e LM-397, que apresentaram valores de CIM de 256 µg/mL, demonstrando forte atividade antifúngica.

Tabela 1. CIM; CFM; CFM:CIM; Efeito do óleo essencial CIM da anfotericina B e Fluconazol em cepas de *Candida albicans*

Leveduras	Óleo Essencial de <i>Mentha piperita</i>				AnfB (µg/mL)	Fluc. (µg/mL)	Controle das cepas
	CIM	CFM	CFM:CIM	Efeito	CIM	CIM	
<i>C. albicans</i>							
ATCC 60193	512	8192	1:16	FGT	0,5	1,0	+
LM 398	256	4096	1:16	FGT	0,5	≥16	+
LM 681	256	4096	1:16	FGT	0,5	≥16	+
LM 37	1024	4096	1:8	FGT	1,0	≥16	+
LM 397	256	4096	1:16	FGT	1,0	8,0	+
LM 685	512	4096	1:8	FGT	0,5	≥16	+
LM 672	512	4096	1:8	FGT	1,0	1,0	+
LM 269	512	4096	1:8	FGT	0,5	≥16	+
LM 127	512	4096	1:8	FGT	0,5	≥16	+
LM 26	1024	8192	1:16	FGT	0,5	1,0	+

Legenda: CIM, concentração inibitória mínima; CFM, concentração fungicida mínima; AnfB, anfotericina B; Fluc, fluconazol; FGT, fungistático; +: crescimento fúngico em RPMI-1640; DMSO (5%), e Tween 80 (2%), sem antifúngicos ou óleo essencial

Os antifúngicos comerciais anfotericina B e fluconazol foram testados sobre cepas de *Candida albicans* em busca da CIM através de técnica de microdiluição. A anfotericina B apresentou uma CIM de 0,5 µg/mL em 70% das cepas testadas, com exceção das cândidas LM 37, LM 397, LM 672 que apresentaram uma CIM de 1,0 µg/mL, mostrando-se um pouco mais resistente quando comparada com as demais. Em relação ao Fluconazol, o antifúngico não demonstrou atividade inibitória sobre a maior parte das cepas testadas, onde nota-se que 60% das cepas obtiveram uma CIM ≥16, com exceção da ATCC 60193, LM 672, LM 26 que apresentaram uma CIM de 1,0 µg/mL e da LM 397 que foi 8,0 µg/mL, os resultados podem ser observados na Tabela 1.

Segundo Hafidh et al. (2011), a razão entre CFM/CIM, quando apresentam valores de 1 ou 2, indicam que o efeito antifúngico de compostos naturais é fungicida e maior que 2 é fungistático. As concentrações fungicidas mínimas (CFM) variaram de 4096 µg/mL (80% das cepas); a 8092 µg/mL nas cepas ATCC-60193 e LM-26.

Sendo assim, todas as cepas apresentaram uma razão CFM:CIM maior que dois, caracterizando assim um efeito majoritariamente fungistático.

Devido ao aparecimento e disseminação de micro-organismos resistentes aos antifúngicos disponíveis, (TSANG et al., 2012; LEWIS, 2013; BONI, 2016) a procura por novas fontes alternativas de tratamento para o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos tem sido o alvo de muitas pesquisas. Portanto, plantas com potencial antifúngico tem sido estudadas com a finalidade de descobrir compostos efetivos contra organismos resistentes, e com baixa toxicidade para o hospedeiro (SAHARKHIZ et al., 2012; BONI, 2016).

Dentre as plantas medicinais, o gênero *Mentha* da família Lamiaceae tem sido relatado como de relevância clínica devido à presença de compostos bioativos, que foram amplamente estudados mostrando atividade antibacteriana, antiviral e antifúngica (SAHARKHIZ et al., 2012; BONI et al., 2017). Estudos mostram que a atividade antifúngica de espécies de *Mentha* spp. como a *M. piperita* tem demonstrado forte atividade contra espécies de leveduras do gênero *Candida* (HÖFLING et al., 2010).

No tocante à composição química dos óleos essenciais de *M. piperita*, Iscan et al. (2002) através de prévias investigações da composição do óleo, elucidaram por GC e GC/MS a composição relativa de quatro amostras de óleos essenciais de *M. piperita* de fontes distintas, os quais os resultados demonstraram que as amostras continham mentol (28%-42%) e mentona (18%-28%) como os principais constituintes.

Outros estudos ratificam que a espécie vegetal produtora do óleo essencial de *M. piperita* elabora uma substância rica em mentol, mentona e mentofurano, sendo estes compostos mais abundantes nas folhas, fato de grande importância econômica na indústria farmacêutica, por possuir uma elevada atividade antibacteriana (IMAI, 1998; ALVES; FREIRES; CASTRO, 2010). O extrato de *M. piperita*, seja na forma de óleo essencial ou na de extrato alcoólico, segundo a literatura, apresenta propriedades antimicrobianas. O mentol é um importante componente presente nesses extratos e contribui para o potencial antimicrobiano dessa planta (MATOS et al., 2009).

Segundo os resultados do estudo de Yadegarinia et al., (2006) sugeriram que este não deve ser visto como o único responsável pela atividade antimicrobiana de *M. piperita*, já que o estudo revelou alta propriedade antimicrobiana do óleo essencial mesmo com baixa concentração de mentol (3,6%). Assim, pode-se deduzir que outros compostos químicos presentes no óleo também contribuem para a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *M. piperita*. (CARRETTO, 2007).

Conforme resultados observados por Neuwirth; Chaves; Bettega (2016) o óleo essencial de *M. piperita* apresentou forte atividade antibacteriana, em particular contra *Escherichia coli*, inclusive contra cepas multiresistentes. Ainda no próprio estudo, comprovou-se que o mesmo, apresentou atividade antifúngica e antioxidante.

Em pesquisa de Duarte et al., (2005) observa-se que *Mentha arvensis* e *M. piperita* apresentaram atividade moderada contra *C.albicans* (ATCC 10231), com CIM de 1,1 mg/mL e 0,6 mg/mL, respectivamente. Esses resultados estão de acordo com estudo de Sartoratto et al. (2004), no qual a *M. piperita* exibiu uma atividade moderada contra *C. albicans* (ATCC 10231), com CIM de 0,74 mg/mL. (CARRETO, 2007).

Outros estudos como o de BALDUCCI et al., (2009) realizaram pesquisas sobre a *M. piperita* ou hortelã-pimenta, planta da família Lamiaceae, nas quais obtiveram resultados positivos, também comprovando a ação antifúngica da família sobre a *C. albicans*, ratificando o intuito da pesquisa e reafirmando o seu potencial antifúngico.

Além de fungos como a *Candida spp.*, várias outras espécies de micro-organismos fúngicos vem sendo testados frente a OEs de *Mentha sp.* Segundo Pereira et al. (2006), obteve-se uma inibição do desenvolvimento dos fungos *A. niger* e *A. flavus* em concentrações de 1500 e 2000 mg/mL, respectivamente com *M. piperita*, Segundo os mesmos autores, *Fusarium sp.* também apresentou seu desenvolvimento afetado na concentração de 500mg/mL pela mesma amostra (MOSCATO et al., 2016).

Em comparação aos fármacos antifúngicos testados tais como a anfotericina B e o fluconazol, o óleo essencial de *M. piperita* demonstrou atividade antifúngica inferior, porém é sabido do potencial nefrotóxico da anfotericina B, o que é um

agravante para os pacientes imunocomprometidos acometidos pela infecção (FILIPPIN; SOUZA, 2006).

Enquanto o fluconazol possui o fato de haver a indicação do mesmo ser administrado com uma dose de carga equivalente ao dobro da terapia a ser adotada para assegurar concentrações estacionárias o que aumenta, consideravelmente, o risco de neurotoxicidade na presença de deficiência de função renal (FICA, 2004). Além de que o uso indiscriminado desse fármaco, principalmente em pacientes imunocomprometidos, vem apresentando resultados insatisfatórios no tratamento de infecções fúngicas em função do aparecimento da resistência (SANTOS JR et al., 2005).

Sendo assim, o emprego de OEs com pequena atividade intrínseca, como o de *M. piperita* em estudo, em conjunto com fármacos sintéticos, pode ser visto como uma possibilidade promissora para o desenvolvimento de novos tratamentos medicamentosos frente a patologias envolvendo fungos deste gênero (MOSCATO et al., 2016).

6 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados compilados pode-se concluir que os compostos químicos ativos presentes na *M. piperita* certamente deve encontrar um lugar no tratamento de infecções.

O óleo essencial apresentou moderada atividade antifúngica contra a grande maioria das cepas de *Candida albicans* ensaiadas, com efeito fungistático observados. O OE apresentou CIM inferior aos antifúngicos licenciados testados.

Os compostos isolados de *Mentha* spp., resultam em efeito benéfico para a saúde pública, uma vez que este novo agente antifúngico substituir ou agir como adjuvantes para tratamentos já utilizados uma vez que espécies de *Candida* vem demonstrando uma certa resistência aos medicamentos habituais.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, I.; BEG, A. Z. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian plants against multi-drug resistant human pathogens. *Jornal Ethnopharmacology*. 2001; 74: 113-123.
- ALMEIDA, L.F.D. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais frente a amostras clínicas de *Candida albicans* isoladas de pacientes HIV positivos. **Revista brasileira plantas medicinais**. Botucatu. v.14, n. 4, p. 649-655, 2012.
- ALMEIDA, O.P; SCULLY, P. Fungal infections of the mouth. *Brazilian Journal of Oral Sciences*. v. 1, p. 19-26, 2002.
- ÁLVARES, C.A; ESTIVALET SVIDZINSKI, T.I.; CONSOLARO, M.E.L. Candidíase vulvovaginal: fatores predisponentes do hospedeiro e virulência das leveduras. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. v. 43 n.5. Rio de Janeiro 2007.
- ALVES, E.F. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e modulatória da fração hexânica do extrato hexânico de *Cordia verbenacea* DC., **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v. 2, n. 5. Juazeiro do Norte, 2014.
- ALVES, L.A; FREIRES, I. A; CASTRO, R.D. Efeito Antibacteriano de Óleos Essenciais sobre Bactérias Formadoras do Biofilme Dentário. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**. v. 14. n. 2. p. 57-62. 2010.
- ANAISSE, E. Opportunistic mycoses in the immunocompromised host: experience at a Cancer Center and review. **Revista Clinical Infectious Diseases**.14: 43-53. 1992.
- ARAÚJO, J. C. L. V. et al. Ação antimicrobiana de óleos essenciais sobre micro-organismos potencialmente causadores de infecções oportunistas. **Revista Patologia Tropical**. Goiás, v. 33, n. 1, p. 55-64, jun. 2004.
- ARAÚJO, T.; SCHACHNER, L. Erupções vesicopustulosas benignas no neonato Benign vesicopustular eruptions in the neonate. **Revista Anais Brasileiros de Dermatologia**. Rio de Janeiro, v.81, n.4, p. 359-366, 2006.
- BARBEDO, L. S., SGARBI, D. B. G. Candidíase. *Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis*. Rio de Janeiro. 22(1):22-38. 2010.
- BARBOSA-FILHO, J. M et al. Sources of alpha-, beta-, gamma-, delta- and epsilon-carotenes: A twentieth century review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, p.135-154, 2008.
- BARBOSA-FILHO, J. M et al. Natural products with antileprotic activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, p. 141-148, 2007.
- BASSOLÉ, I.H.N. et al. Composition and antimicrobial activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. essential oils and their

major monoterpene alcohols alone and in combination. *Mólecules*.15: 7825-7839. 2010

BALDUCCI, S. et al. Physical activity/exercise training in type 2 diabetes. The role of the Italian Diabetes and Exercise Study. *Diabetes Metabolism Research and Reviews*, 1, 29-33. 2009.

BERDICHEVSKI, R. H. Nefrotoxicidade associada à anfotericina B em pacientes de baixo risco. Tese (Mestrado em programa de pós-graduação em ciências médicas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2003.

BETONI, J.E.C. et al. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. **Revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. 101(4): 387-390. 2006.

BIAVATTI, M. et al. Ethnopharmacognostic survey on botanical compendia for potential cosmetic species from Atlantic Forest. **Revista Brasileira de farmacognosia**. v.17, p. 640- 653, 2007.

BODEY, G. P. et al. The epidemiology of *C. glabrata* and *C. albicans* fungemia in immunocompromised patients with cancer. *The American Journal of Medicine*, v. 112, p380-85, 2002.

BONI, G. C. Avaliação da atividade anti-*Candida* de compostos purificados isolados de diferentes espécies de *Mentha*. Tese (Mestrado em Biologia Buco-Dental, na Área de Microbiologia e Imunologia). Universidade Estadual de Campinas. Piracicaba. 2016.

BONI, G. C. Purified bioactive compounds from *Mentha* spp. oils as a source of Candidosis treatment. A brief review. **Revista Fitos Eletrônica**, [S.l.], v. 11, n. 1, p. 95-106, set. 2017. ISSN 2446-4775. Acessado em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/516>>. Acesso em: 14 nov. 2017. doi:<http://dx.doi.org/10.5935/2446-4775.20170009>.

BREMER, F. et al. In vivo biofilm formation on different dental ceramics. *Quintessence International*, Berlim, v. 42, n. 7, p. 565-574, 2011.

BROOKS, G.F. et al. *Microbiologia Médica*. 21 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2000.

CALDERONE, R.A; FONZI, W.A. Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends in Microbiol* 9: 327-335. 2001.

CAMPOS, R. S. Atividade antifúngica da palmatina frente a isolados de *candida* spp. resistentes a azólicos e sua atividade contra biofilme formado e em formação. Tese (Doutorado em Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Médica). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2017.

- CARRILLO-MUÑOZ, A. J. et al. Combination antifungal therapy: A strategy for the management of invasive fungal infections. **Revista Española de Quimioterapia**, v. 27, n.3, p 141-158, 2014.
- CARRETO, C.F.P. Atividade antimicrobiana de *Mentha piperita* L. sobre leveduras do gênero *Candida*. Tese (Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em biopatologia bucal, Área Biopatologia Bucal). São José dos Campos. 2007.
- CHAFFIN, W.L. et al. Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*: identification, function, and expression. **Revista Microbiology and Molecular Biology Reviews**. v. 62, p. 130-80, 1998.
- CHANDRA, J. et al. Antifungal Resistance of Candidal Biofilms Formed on Denture Acrylic in vitro. **Revista Journal of Dental Research** 80: 903-908. 2001.
- CHENG, M.F. et al. Risk factors for fatal candidemia caused by *Candida albicans* and non-albicans *Candida* species. **BMC Infectious Diseases** 5:1-5, 2005.
- CLEELAND, L.; SQUIRES, E. Evaluation of new antimicrobials in vitro and experimental animal infections. In: Lorian VMD. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Baltimore: Williams & Wilkins. p.739-788.1991.
- COLOMBO, A.L. et al. Susceptibility profile of 200 bloodstream isolates of *Candida* spp collected from Brazilian tertiary care hospitals. **Revista Medical Mycology** 41: 235-239, 2003.
- COLOMBO, A. L. et al. Epidemiologia da candidemia no Brasil: vigilância sentinela nacional de candidemia em onze centros médicos. **Journal of Clinical Microbiology** , v. 44, p. 2816-23, 2006.
- COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia de infecções hematógenas por *Candida* spp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 36, p. 599-607, 2003.
- CORREA, F.O.B. et al. Effect of periodontal treatment on metabolic control, systemic inflammation and cytokines in patients with type 2 diabetes. *Journal of Clinical Periodontology*. Malden, v. 37, n. 1, p. 53-58, Jan. 2010.
- COUTINHO, H.D. M. et al. Enhancement of the Antibiotic Activity against a Multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and Chlorpromazine. *Chemotherapy*, v.54, p. 328-330, 2008a.
- 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, p. 670-675, 2008b. 12.
- COUTINHO, H. D. M. et al. Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. *Chemotherapy*, Genebra, V. 54, n. 4, p. 328-330. Ago. 2008.

COUTO, E. M. P.; CARLOS, D.; MACHADO, E.R. Candidíase em neonatos: uma revisão epidemiológica. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, São Paulo. 15:197-213. 2011.

CUNHA, A. S. S. et al. Biofilmes de *Candida* spp. em próteses removíveis usadas por pacientes idosos: uma revisão narrativa da literatura. **Revista Diálogos Acadêmicos**. Fortaleza, v. 4, n. 2, jul./dez. 2015.

DELARZE, E.; SANGIARD, D. Defining the frontiers between antifungal resistance, tolerance and the concept of persistence. *Drug Resistance Updates*, Lausanne. v. 23, p. 12- 19, 2015. (A1)

DESCHAMPS, C. et al. Avaliação de genótipos de *Mentha arvensis*, *Mentha x piperita* e *Mentha* spp. para produção de mentol. **Revista Hortic. Bras.**; 31(2): 178-183. 2013.

DUARTE, M. C. T. Atividade Antimicrobiana de Plantas Medicinais e Aromáticas Utilizadas no Brasil. **Revista Multiciências**. Campinas. SP. Out. 2006.

DUARTE, M. C. T. et al. Anti-Candida activity of brazilian medicinal plants. *J Ethnopharmacol*. Feb.;97(2):305-11. 2005.

EDWARDS, J. E, FILLER, S. G. Current strategy for treating invasive candidiasis: emphasis on infections in nonneutropenic patients. **Revista Clinical Infectious Diseases** 14: 106-113. 1992.

EGGIMAN, P. et al. Epidemiologia de infecções de espécies de *Candida* em pacientes criticamente doentes não imunossupressores. *Lancet Infect Dis*, v. 3, p. 685-702, 2003.

ELOFF, J. N. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. **Revista Planta Medica**. v. 64, n. 8, p. 711-713, 1998.

FERREIRA, C. P. Caracterização química e morfológica de genótipos de *Mentha* spp. Brasília: Universidade de Brasília, 96p. 2008.

FICA, A.C. Tratamiento de infecciones fúngicas sistêmicas primeira parte: fluconazol, itraconazol y voriconazol. **Revista Chilena de Infectologia**;21:26-38, 2004.

FILIPPIN, F.B.; SOUZA, L.C. 2006. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.42, n. 2, p. 167-94.

FIORITO, G.F., Atividade antiproliferativa e ação estrogênica/antiestrogênica de extratos e frações de algumas espécies de *mentha* (Lamiaceae). Tese (Doutorado na na área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica). Universidade Estadual de Campinas. Piracicaba. 2016.

- FURLANETO-MAIA, L. et al. In vitro evaluation of putative virulence attributes of oral isolates of *Candida* spp. obtained from elderly healthy individuals. **Revista Mycopathologia**, v. 166, p. 209-17, 2008.
- GARLET, T. M. B. et al. Produção e qualidade do óleo essencial de menta em hidroponia com doses de potássio. **Revista de Ciências Rural**. 37(4): 956-962.2007.
- GARLET, T.M.B. et al. Influência de citocininas na micropropagação de *Mentha x gracilis* Sole. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. 13(1), 30-34. 2011.
- GHANNOUM, M.A.; RADWAN, S.S. *Candida* adherence to epithelial cells. New York: CRC Press, 1990.
- GHANNOUM, M. A; ABU-ELTEEN, K. H. Pathogenicity determinants of *Candida*. *Mycoses*, 33: 265-282, 1990.
- GIBBONS, S. Anti-staphylococcal plant natural products. **Revista Natural Product Reports**, Londres, v. 21, n. 2.p. 263-777.Mar. 2004.
- GIOLO, M. P.; SVIDZINSKI, T. I. E. Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. v. 46, n. 3, p. 225-234, junho 2010.
- GOLPES, J. M. Efeito do extrato do própolis e dos óleos de rícino e de alecrim nas propriedades de resinas acrílicas para prótese: uma revisão de literatura, 2014.
- GIRME, A. S et al. Comparative in vitro anthelmintic activity of *Mentha piperita* and *Lantana camara* from western India. *J. Pharm. Sci.* 2006; 5(1-2): 5-7.
- GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular aspects of medicine**. Londres, v. 27, p. 91-93. Ago. .2006.
- GRAYBILL, J. R. Future directions of antifungal chemotherapy. **Revista Clinical Infectious Diseases**. 14: 170-181. 1992.
- GROSSI, P.A. Clinical aspects of invasive candidiasis on solid organ transplant recipients. *Drugs*, Rome, v.69, n.1, p.15-20, 2009.
- HAFIDH, R. R. et al. Inhibition of growth of highly resistant bacterial and fungal pathogens by a natural product. **Current Opinion in Microbiology**. v. 5, p. 96-106, 2011.
- HADACEK, F.; GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. **Revista Phytochemistry**. Analysis 11 (2000) 137–147.
- HÖFLING, J. F. et al. Antimicrobial potential of some plant extracts against *Candida* species. *Brazilian Journal of Biology*. 2010; 70(4): 1065-9.

IMAI, H. Inhibition by the essential oils of peppermint and spearmint on the growth of pathogenic bacteria. *Microbios*, 106(1): 39-31, 2001.

ISCAN, G. et al. Antimicrobial Screening of *Mentha piperita* essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 2002; 50: 3943-3946.

KAUFMAN, C.A. et al. *Candida* Urinary Tract Infections- Diagnosis. **Clinical Infectious Diseases**. Michigan, v. 52, n.6, p.452-456, 2001.

KONEMAN, E. et al. Diagnóstico Microbiológico. 6 ed. Rio de Janeiro. Ed Guanabara Koogan, p. 1565. 2008.

KUMAMOTO, C.A; VINCES, M.D. Contributions of hyphae and hyphae-co-regulated genes to *Candida albicans* virulence. *Cell Microbiol.*, v. 7, p. 1546-54, 2005.

KUMAR, D. et al. Candidemia-induced pediatric sepsis and its association with free radicals, nitric oxide, and cytokine level in host. **Journal of Critical Care**, v. 30, n. 2, p. 296- 303, 2015.

KURTZMANN, C. P.; FELL, J. W. The Yeast: a taxonomic study. 4th ed. Amsterdam: Elsevier, 1998.

LEWIS, K. Platforms for antibiotic discovery. **Revista Nature Reviews Drug Discovery**. 2013; 12(5).

LIMA, I. DE O et al, 2006. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, 16(2): 197-201, Abr./Jun. 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. Plantas medicinais do Brasil: Nativas e exóticas. Instituto Plantarum, Nova Odessa, 2002.

MACIEL, M.A.M. et al. Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, p. 429- 438,2002.

MAGGIORE, M. A et al. Anthelmintic effect of *Mentha* spp. essential oils on *Echinococcus granulosus* protoscoleces and metacestodes. **Parasitologia Res.** v.110, 2012; 110(3): 1103-1112.

MALHEIROS, D. F., Óleo essencial de *Mentha piperita* (Lamiaceae) no controle de monogenoideas das brânquias de *Arapaima gigas* (Arapaimidae). Tese (Mestrado no Programa de Pós - Graduação em Biodiversidade Tropical – PPGBIO). Universidade Federal do Amapá - UNIFAP. Macapá, 2014.

MARQUEZ, B. et al. Multidrug resistance reversal agent from *Jatropha elliptica*. **Revista Phytochemistry**. 2005; 66(15):1804-11.

MARTINEZ-ROSSI, N. M.; ROSSI, A. Antifungal resistance mechanisms in dermatophytes. **Revista Mycopathologia**, Ribeirão Preto. v. 166, p. 369-383, 2008. (B2).

- MARTINS, E.R. Estudos em *Ocimum selloi* Benth isoenzimas, morfologia e óleo essencial. In: MING.L.C. et al (Coord). Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica. Botucatu. Universidade Estadual Paulista. v. 2, p. 97-125. 1998.
- MATOS BM, KOMIYAMA EY, BALDUCCI I, KOGA-ITO CY. Atividade antifúngica do extrato alcoólico de *Mentha piperita* sobre *Candida albicans* e *C.tropicalis*. **Revista Odontol.** UNESP. 2009; 3(4): 244-248.
- MELO, I. A.; GUERRA, R. C. Candidíase oral: um enfoque sobre a estomatite por prótese. **Revista Salusvita.** Baurú, v. 33, n. 3, p. 389-414, 2014.
- MENEZES, E. A. et al. Isolamento de *Cândida* spp. No mamilo de lactantes do Banco de Leite Humanos da universidade Federal do Ceará e teste de susceptibilidade a antifúngicos. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial.* Ceará, v.40, n.5, p.299-305, 2004.
- MOREIRA, A. C. P. et al. Chemical composition and antifungal activity of *Hyptissuaveolens* (L.) poit leaves essential oil against *Aspergillus* species. *Brazilian Journal of Microbiology.* v. 41, p. 28-33, 2010.
- MOSCATO, A. M. et al, Composição química e atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Mentha spicata* e *Mentha piperita* L. cultivadas por hidroponia. **Revista MulticiênciaOnline.** Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus Santiago. 2016.
- MURRAY, P. R. et al. **Revista Microbiologia médica.** 4 ed. Rio de janeiro: Guanabara-Koogan S.A, 2004.
- NASCIMENTO, G. G. F. et al. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Braz. J. Microbiol.* 2000; 31(4): 24756.
- NASCIMENTO, P.F.F. et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.1, p.108-13, 2007.
- NEUWIRT, A.; CHAVES, A. L. R.; BETEEGA, J. M. R. Propriedades dos óleos essenciais da cipreste, lavanda e hortelã-pimenta. 2016.
- NIEWERTH, M, KORTING, H.C. Phospholipases of *Candida albicans*. *Mycoses*, 2001 Nov; 44(9-10): 361-7.
- NIKESH M, BINITHA G, REKHA S, RAVINDRA N, ANTO SHERING M. Comparative in vitro anthelmintic activity of chloroform and cetone extracts of *mentha piperita*. *Intern. J. Pharm. Biol.* 2011; 2(3): 945-948.
- ODDS, F.C. Pathogenesis of *Candida* infection. *J American Academic Dermatol*, v. 31, p. 2-5, 1994.

- ODDS, F.C. et al. Candida concentrations in the vagina and their association with signs and symptoms of vaginal candidosis. *J Med Vet Mycol*, v. 26, p. 277-83, 1988.
- OKSUZ, S.; SAHIN, I.; YILDIRIM, M. et al. Phospholipase and proteinase activities in different Candida species isolated from anatomically distinct sites of healthy adults. *Jpn J Infect Dis*. 60: 280-283, 2007.
- OLIVEIRA, S. D. et al. Atividade antibacteriana e moduladora de *Cecropia pachystachya* Trécula sobre ação de aminoglicosídeos. **Revista Cubana de Plantas Mediciniais**. 2014, vol.19, n.3, pp. 121-132.
- OMBRELLA, A. M; RACCA, L; RAMOS, L. Actividades proteinasa y fosfolipasa de aislamientos de *Candida albicans* provenientes de secreciones vaginales com distintos valores de pH. **Revista Iberoamericana de Micología**. v. 25, p. 12-6, 2008.
- PADOVANI GIOLO, M., ESTIVALET SVIDZINSKI, T. I.; "Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia". *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, Rio de Janeiro, vol. 46, núm. 3, Junho, 2010, pp. 225-234 2010.
- PAI, M.R., ACHARYA, L.D., UDUPA, N., 2004. Evaluation of antiplaque activity of *Azadirachta indica* leaf extract gel – a 6-week clinical study. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 90, p. 99-103.
- PAIVA, L.C. A. et al., Avaliação clínica e laboratorial do gel da *Uncária tomentosa* (Unha de Gato) sobre candidose oral. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Campina Grande.19(2A): 423-428, Abr./Jun. 2009.
- PEIXOTO, J.V. et al. Candidíase - uma revisão de literatura, *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research*. Minas Gerais. Vol.8, n.2, pp.75-82 (Jun-Ago 2014).
- PENHA, D. A. C. D. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Mikania glomerata* e da própolis utilizados no laboratório de fitoterápicos da fai. **Revista OMNIA Saúde**. v.5, p. 23-28, 2011.
- PEREIRA, F.O, WANDERLEY, P.A, VIANA, F.A.C. Growth inhibition and morphological alterations of *Trichophyton rubrum* induced by essential oil from *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex bor. *Brazilian Journal of Microbiology*; 2011 ;233–42.
- PEREIRA, M.C. et al. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Revista de Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 4, p. 731-738. 2006.
- PIERCE, C. G. et al. From biology to drug development: new approaches to combat the threat of fungal biofilms. *Microbiology Spectrum*, v. 3. n. 3, doi: 10.1128/microbiolspec.MB-0007-2014, 2015.

PINHEIRO, B.G. Avaliação da atividade antifúngica de nimesulida sozinha e em combinação com itraconazol ou Anfotericina B contra *Candida albicans*. XXV Seminário de Iniciação Científica. Biomedicina, 2016.

PONTES, C. S. Avaliação da prevalência e do perfil de virulência de *Candida* spp. bucais isoladas de pacientes portadores de doença periodontal e diabetes tipo 2. Tese (Mestrado no Programa de Pós Graduação em Saúde, Sociedade e Endemias na Amazônia). Universidade Federal do Amazonas. Manaus. 2016.

PORTILLO, A. et al. Atividade antifúngica das plantas paraguaias utilizadas na medicina tradicional. 1. ed. *Jornal de Etnofarmacologia* 76: 93-98. 2001.

RAUT, J. S., KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial crops and products*, v. 62, p. 260-264, 2014.

RIACHI, L. G.; DE MARIA, C. A. Peppermint antioxidants revisited. *Food chemistry*, 176, 72-81. 2015.

RIBEIRO, E. L. et al. Aspectos das Leveduras de *Candida* vinculadas as infecções nosocomiais. *NewsLab, Goiás*, p. 106-128, 2004.

ROSA, M.I.; RUMEL, D. Fatores associados à candidíase vulvovaginal: estudo exploratório. **Revista Brasileira de Ginecologia Obstetrícia**. v. 26, n. 1, p. 65-70, 2004.

SAHARKHIZ, M. J. et al. Chemical Composition, Antifungal and Antibiofilm Activities of the Essential Oil of *Mentha piperita* L. *ISRN Pharm.* 2012;2012:1–6.

SAHIN, F. et al. Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. *Microbiological Research*, v. 163, n. 3, p. 337-344. 2006.

SAMARANAYAKE, Y. H. et al. Differential phospholipase gene expression by *C. albicans* in artificial media and cultured human oral epithelium. *APMIS*; 114:857-66. 2006.

SANTOS JR, I.D. et al. Características gerais da ação, do tratamento e da resistência fúngica ao fluconazol. **Scientia Medica**, 15:189-197, 2005.

SANTOS, V. M. C. S. et al. Seasonal variation of vegetative growth, essential oil yield and composition of menthol mint genotypes at southern Brazil. *Biosci. J.* 28(5): 790-798. 2012.

SARTO, M.P.M., JUNIOR, G.Z., Atividade antimicrobiana de óleos essenciais, *Revista UNINGÁ Review*. Paraná. vol.20, n.1, pp.98-102 (Out - Dez 2014).

SARTORATTO, A. et al. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Braz. J. of Microbiol.* 2004; 35(4): 275-280.

SCHERER, K.D.G. Atividade antifúngica do óleo essencial *syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) em agentes causadores de onicomicoses. Santa Cruz do Sul, 2017.

SILVA, A.K.F da et al. Infecções urinárias nosocomiais causada por fungo do gênero *Candida*: uma revisão. *Ciências Biológicas e da Saúde*, Maceió, v. 2, n.1, p. 45-57, maio, 2014.

SILVA, H. M., Caracterização e identificação de leveduras do gênero *Candida* em pacientes transplantados de medula óssea. Tese (Mestrado em Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás, 2011.

SILVA, S. et al. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. **FEMS Microbiology Reviews**. v. 36, n. 2 p. 288– 305, 2012.

SIMÕES CM, SPITZER V. Óleos essenciais. In: Simões CMO, Schenckel, EP, Gosmann, G, Mello, JCP. *Farmacognosia: Da planta ao medicamento*. Porto Alegre. Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC. p. 387-415. 1999.

SIQUI, A.C. et al. Óleos essenciais - potencial antiinflamatório. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento* 16: 38-43.

SOARES, L. A. et al. Anti dermatophytic therapy - Prospects for the discovery of new drugs from natural products. *Brazilian Journal of Microbiology*, Araraquara. v. 44, n. 4, p. 1035- 1041, 2013. (B3).

TALARMIN, J. P. et al. Epidemiology of candidemia: a one-year prospective observational study in the west of France. *Med Mal Infect*, v. 39, p. 877-85, 2009.

TAMPIERI, M. P. et al. The inhibition of *Candida albicans* by selected essential oils and their major components. **Revista Mycopathologia**. 2005; 159: 339-345.

TAMURA, N.K et al. Fatores de virulência de *Candida* spp isoladas de cateteres venosos e mãos de servidores hospitalares. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 40(1):91-93, jan-fev. 2007.

TSANG, P. W-K et al. Purpurin suppresses *Candida albicans* biofilm formation and hyphal development. *PloS One*. 2012;7(11).

TINTINO, S. R., GUEDES, G. M. de M, GUEDES, F. A. B., Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana e moduladora dos extratos etanólico e hexânico de bulbo de *costus arabicus*, *Jornal Bioscience*, Uberlândia, v. 29, n. 3, p. 732-738, maio/junho 2013.

VALMORBIDA, J. et al. Rendimento e Composição química de óleos essenciais de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva com diferentes concentrações de potássio. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu. Campinas. SP, v.8, n.4, p.56-61, 2006.

VIDAL, F et al. Giardia lamblia: The effects of extracts and fractions from Mentha x piperita Lin. (Lamiaceae) on trophozoites. Exp. Parasitol. 2007; 115: 25-31.

VOSS, A., et al. Investigation of Candida albicans transmission in a surgical intensive care unit cluster by using genomic DNA typing methods. J Hosp Infect, 49: 37-42, 2001.

YADEGARINIA, D. et al. Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. **Revista Phytochem.** 2006; 67: 1249-1255.

YANG, Y.L. Virulence factors of Candida species. J Microbiol Immunol Infect 36: 223-228. 2003

ZARDO, V., MEZZARI, A. Os antifúngicos nas infecções por Candida sp. **Revista NewsLab.** Porto Alegre, edição 63, 2004, p. 137.