

Atividade antifúngica do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* contra *Candida não-albicans* de importância clínica no atendimento pediátrico

Antifungal activity of the essential oil of Cymbopogon winterianus against Candida non-albicans of clinical importance in pediatric care

Actividad antifúngica del aceite esencial de Cymbopogon winterianus contra Candida no albicans de importancia clínica en atendimento de pediatria

Ana Luísa de Araújo **LIMA**¹
Abrahão Alves de **OLIVEIRA FILHO**²
Ana Luíza Alves de Lima **PÉREZ**³
Janiere Pereira de **SOUSA**¹
Lilian Sousa **PINHEIRO**¹
Hermes **DINIZ NETO**¹
José Pinto de **SIQUEIRA JÚNIOR**¹
Edeltrudes de Oliveira **LIMA**¹

¹Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), 58059-900, João Pessoa - PB, Brasil

²Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) 58700-970 Patos-PB, Brasil

³Programa de Pós-graduação em Odontologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), 58059-900, João Pessoa - PB, Brasil

Resumo

Introdução: Devido às altas taxas de mortalidade, a candidemia têm se tornado um grave problema de saúde na realidade pediátrica, sobretudo quando se considera o aumento de infecções e a letalidade dos casos em grupos de risco como as crianças hospitalizadas e com sistema imunológico deficiente. Ultimamente têm-se percebido um aumento de infecções fúngicas provocadas por espécies não-*albicans*, trazendo uma nova realidade para o combate destas infecções, especialmente por envolver espécies resistentes à terapia convencional. Já foi demonstrado que o óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* possui uma vasta gama de propriedades farmacológicas, incluindo atividade antifúngica. **Objetivo:** Este trabalho buscou avaliar a atividade antifúngica do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor (Poaceae) contra isolados de *Candida não-albicans* de importância clínica pediátrica. **Material e Método:** A concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração fungicida mínima (CFM) foram determinadas pelas técnicas de microdiluição em caldo. **Resultados:** Tanto a CIM₅₀ quanto a CFM₅₀ do óleo essencial de *C. winterianus* para os isolados testados foi de 128 µg/mL. **Conclusão:** Este produto natural apresentou potencial antifúngico *in vitro* contra cepas de *Candida não-albicans* clinicamente relevante para a pediatria médica. Contudo, mais estudos são necessários para elucidar seu mecanismo de ação.

Descritores: Técnicas de Tipagem Micológica; *Candida*; Candidemia; *Cymbopogon*; Óleos; Pediatria.

Abstract

Introduction: Due to the high mortality rates, candidemia has become a serious health problem in the pediatric reality, especially when considering the increase of infections and the lethality of the cases in groups at risk such as children hospitalized and with deficient immune system. Recently there has been an increase in fungal infections caused by non-*albicans* species, bringing a new reality to combat these infections, especially since it involves species resistant to conventional therapy. It has been shown that the essential oil of *Cymbopogon winterianus* has a wide range of pharmacological properties, including antifungal activity. **Objective:** This work aimed to evaluate the antifungal activity of the essential oil of *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor (Poaceae) against *Candida non-albicans* isolates of pediatric clinical importance. **Materials and Methods:** Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (CFM) were determined by broth microdilution techniques. **Results:** Both the CIM₅₀ and CFM₅₀ of the *C. winterianus* essential oil for the tested isolates were 128 µg/mL. **Conclusion:** This natural product presented antifungal potential *in vitro* against strains of *Candida non-albicans* clinically relevant to medical pediatrics. However, more studies are needed to elucidate its mechanism of action.

Descriptors: Mycological Typing Techniques; *Candida*; Candidemia; *Cymbopogon*; Oils; Pediatrics.

Resumen

Introducción: Debido a las altas tasas de mortalidad, la candidemia se ha convertido en un grave problema de salud en la realidad pediátrica, sobre todo cuando se considera el aumento de infecciones y la letalidad de los casos en grupos de riesgo como los niños hospitalizados y con un sistema inmunológico deficiente. Últimamente se han percibido un aumento de infecciones fúngicas provocadas por especies no-*albicans*, trayendo una nueva realidad para el combate de estas infecciones, especialmente por involucrar a especies resistentes a la terapia convencional. Se ha demostrado que el aceite esencial de *Cymbopogon winterianus* posee una amplia gama de propiedades farmacológicas, incluyendo actividad antifúngica. **Objetivos:** Este trabajo buscó evaluar la actividad antifúngica del aceite esencial de *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor (Poaceae) contra aislados de *Candida no-albicans* de importancia clínica pediátrica. **Material y Métodos:** La concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración fungicida mínima (CFM) fueron determinadas por las técnicas de microdilución en caldo. **Resultados:** Tanto la CIM₅₀ como la CFM₅₀ del aceite esencial de *C. winterianus* para los aislados probados fue de 128 µg/ml. **Conclusión:** Este producto natural presentó potencial antifúngico *in vitro* contra cepas de *Candida no-albicans* clinicamente relevante para la pediatria médica. Sin embargo, más estudios son necesarios para elucidar su mecanismo de acción.

Descriptores: Técnicas de Tipificación Micológica; *Candida*; Candidemia; *Cymbopogon*; Aceites; Pediatria.

INTRODUÇÃO

Ao redor do mundo, as infecções fúngicas têm se tornado um grave problema de saúde pública, onde as infecções causadas pelo gênero *Candida* figuram como a terceira infecção de corrente sanguínea mais frequente. Esta situação adquire maior importância em grupos de risco como os pacientes pediátricos, especialmente aqueles que estão com sistema imunológico comprometido e/ou hospitalizados por longos períodos, onde a candidemia atinge taxas de mortalidades superiores a

30%¹. Estudos sobre a incidência de candidemias na população pediátrica brasileira já mostraram que *C. albicans* é a espécie mais frequentemente isolada, porém, tem ocorrido um aumento no número de candidemias provocadas por espécies não-*albicans* tais como: *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. pelliculosa*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. glabrata* e *C. pararugosa*^{2,3}.

Estas candidemias provocadas por espécies não-*albicans* adquirem relevância por apresentarem

difícil tratamento devido a resistência inata ou adquirida apresentada por estas leveduras contra os agentes antifúngicos tradicionais⁴. Somado a isso, temos a escassez de fármacos disponíveis para um tratamento eficaz de fungemias, onde normalmente apresentam intensa toxicidade⁵, o que denota a importância de sucessivas pesquisas com o intuito de se obter novos compostos que possam ser utilizados contra estas infecções⁶.

Uma valiosa fonte de substâncias com potencial terapêutico está na pesquisa com produtos naturais, especialmente os de origem vegetal. *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor, pertencente a família Poaceae, é uma erva aromática medicinal popularmente conhecida como citronela que já apresentou atividades farmacológicas como anti-tumoral⁷, antibacteriana⁸, anticonvulsivante, antioxidante⁹, inseticida¹⁰ e antimicótica¹¹.

Devido às propriedades antifúngicas deste óleo essencial, buscou-se avaliar o potencial antifúngico do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* contra cepas de *Candida não-albicans* oriundas de infecções de corrente sanguínea de pacientes pediátricos.

MATERIAL E MÉTODO

○ Substâncias

O óleo essencial das folhas frescas de *C. winterianus* Jowitt ex Bor foi obtido por hidrodestilação pelo Dr. Paulo Alves Wanderley da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). A identificação da planta foi realizada pela Dra. Rita Baltazar de Lima, do Laboratório de Botânica da UFPB. A exsiccata foi registrada sob o código JPB 41387 e depositada no Herbário Professor Lauro Pires Xavier na UFPB. A anfotericina B e o fluconazol foram obtidos na Sigma-Aldrich (São Paulo, SP, Brasil), o dimetilsulfóxido (DMSO) e Tween 80 foram comprados na Labsynth Ltda. (Diadema, SP, Brasil). A emulsão dos produtos utilizada nos ensaios antifúngicos foi preparada no momento da execução dos testes. Os produtos foram solubilizados em DMSO, Tween 80 e água destilada, de forma a se obter uma concentração inicial de 1024 µg/mL. A mistura foi agitada durante 3 minutos em um aparelho Vortex (Fanem® Ltda., Guarulhos, SP, Brasil).

○ Meios de cultura

Para testar a atividade biológica dos produtos, foram utilizados o agar Sabouraud dextrose (ASD), adquirido da Difco Laboratories (Detroit, MI, EUA), agar-fubá da HiMédia Laboratories (Mumbai, MH, Índia), e RPMI-1640 com L- glutamina sem bicarbonato de sódio da Sigma-Aldrich (São Paulo, SP, Brasil). Os meios foram preparados e usados de acordo com as instruções dos fabricantes. Os meios foram solubilizados em água destilada e esterilizados em autoclave a 121°C, 1,0 atm durante 15 min.

○ Amostras fúngicas

Os ensaios foram realizados com seis cepas de *Candida não-albicans* isoladas de pacientes pediátricos com infecção da corrente sanguínea e duas cepas ATCC como padrão. Duas cepas clínicas de *Candida tropicalis* (AM-01 e AM-12); duas cepas clínicas de *Candida parapsilosis* (AM-05 e AM-14) e duas cepas clínicas de *Candida pelliculosa* (AM-03 e AM-11). As cepas usadas como padrão foram: *C. tropicalis* ATCC-13803 e *C. parapsilosis* ATCC-22019. Estas cepas pertencem à coleção do laboratório de micologia da UFPB e foram mantidas em ASD a 4°C até a utilização nos testes.

○ Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A CIM foi determinada pelo método da microdiluição¹². Culturas de *Candida* spp. foram semeadas em ASD e incubadas por 24-48 horas em temperatura de 37°C. Colônias dessas culturas foram suspensas em solução de 0,85% NaCl estéril e o inóculo foi padronizado de acordo com a escala 0,5 de McFarland (1-5x10⁶ UFC/mL). Em placa de 96 poços foram distribuídos meio líquido de RPMI-1640 e óleo essencial de *C. winterianus* em concentrações de 1024 a 0,5 µg/mL. A determinação da CIM foi conduzida com aproximadamente 1-5x10⁵ UFC/mL de microrganismos em cada poço. As placas foram incubadas à 37°C por 24-48 horas. Em 24-48 horas houve uma observação visual do crescimento fúngico. A CIM foi definida como a menor concentração do óleo que inibiu o crescimento visível da levedura^{13,14}. Um controle negativo (sem drogas) foi realizado para confirmar a viabilidade celular fúngica¹². Um controle de sensibilidade ao Tween 80 e DMSO foi realizado nas mesmas concentrações utilizadas para dissolver os produtos. Houve três independentes experimentos em duplicata em diferentes ocasiões. Os resultados foram expressos como a média aritmética da CIM.

○ Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM)

Para determinar a CFM, 10µL de cada poço sem o crescimento fúngico foi semeado em placas contendo ASD que por sua vez foram incubadas à 37°C por 24-48 horas. A CFM foi considerada como a menor concentração cultivada em placa com SDA em que o crescimento foi inferior a 3 UFC¹⁵. Um controle negativo (sem drogas) foi realizado para confirmar a viabilidade celular fúngica¹². Um controle de sensibilidade ao Tween 80 e DMSO foi realizado nas mesmas concentrações utilizadas para dissolver os produtos. Houve três independentes experimentos em duplicata em diferentes ocasiões. Os resultados foram expressos como a média aritmética da CFM.

RESULTADOS

Para determinação da concentração inibitória

mínima (CIM) e da concentração fungicida mínima (CFM) do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus*, como visto na Tabela 1, a CIM do óleo essencial testado variou entre 64 e 256 µg/mL. A concentração de 256 µg/mL inibiu o crescimento de todas as cepas, enquanto 128 µg/mL foi capaz de inibir acima de 50% das cepas testadas. A CFM contra os micro-organismos variou entre 128 e 512 µg/mL, sendo esta última concentração fungicida contra todas as cepas testadas. Assim, a CFM₅₀ (concentração fungicida mínima capaz de inibir 50% das cepas fúngicas) do óleo essencial de *C. winterianus* oil foi 128 µg/mL. A razão entre a CFM/CIM demonstrou natureza fungicida do óleo essencial para todas as cepas testadas, exceto contra *Candida parapsilosis* (AM-05) onde apresentou apenas efeito fungistático. A CIM da anfotericina B variou entre 0.5 e 1 µg/mL. Já o fluconazol teve uma CIM entre 0.5 e 8 µg/mL. Os resultados para o ensaio controle não apresentou inibição do crescimento fúngico.

Tabela 1: CIM, CFM, CFM/CIM e efeito do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* e CIM da anfotericina B e fluconazol contra cepas das espécies de *Candida* não-*albicans*.

Leveduras	Óleo essencial de <i>C. winterianus</i> (µg/mL)				Anf (µg/mL)	Fic (µg/mL)	Controle ^a
	CIM	CFM	CFM/CIM	Efeito	CIM	CIM	
<i>C. tropicalis</i>							
ATCC-13803	128	128	1:1	Fungicida	0.5	0.5	+
AM-01	128	128	1:1	Fungicida	1	1	+
AM-12	128	256	2:1	Fungicida	0.5	0.5	+
<i>C. parapsilosis</i>							
ATCC 22019	128	128	1:1	Fungicida	0.5	0.5	+
AM-05	128	512	4:1	Fungistático	1	1	+
AM-14	256	512	2:1	Fungicida	0.5	4	+
<i>C. pelliculosa</i>							
AM-03	256	256	1:1	Fungicida	1	8	+
AM-11	64	128	2:1	Fungicida	1	8	+

CIM = concentração inibitória mínima; CFM = concentração inibitória mínima; Anf = anfotericina B
 Fic = fluconazol;

^a = crescimento fúngico em RPMI-1640; DMSO (5%) e Tween 80 (2%), sem agente antifúngico

DISCUSSÃO

Infecções de correntes sanguíneas provocadas por *Candida* representam um importante causa de morte em pacientes pediátricos hospitalizados em todo o mundo¹⁶. *C. albicans* permanece como a mais frequente espécie causadora deste tipo de infecção. Porém, outras espécies com reduzida susceptibilidade aos agentes antifúngicos como *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. guilliermondii* estão sendo constantemente encontradas como o agente da fungemia¹⁷.

Tanto as plantas medicinais quanto seus fitoconstituintes são uma valiosa fonte de novos fármacos para o tratamento de diversas doenças¹⁸. Os óleos essenciais vegetais, ricos em monoterpenos e sesquiterpenos são umas destas fontes de potenciais agentes terapêuticos, o que atribui valor comercial a estes produtos¹⁹.

Em outros estudos, o óleo essencial de *C. winterianus* apresentou valores elevados de CIM (600-1250 µg/mL) contra cepas de *Candida albicans*

isoladas de pacientes adultos^{11,20}. Esta diferença pode ocorrer por causa da origem e linhagem dos micro-organismos testados, uma vez que estas leveduras podem apresentar uma resistência inata ou adquirida de acordo com a situação do paciente.

A atividade antimicrobiana de uma determinada substância pode ser interpretada de acordo com Sartoratto et al.²¹ (2004): forte/boa atividade (CIM: <500 µg/mL) e Morales et al.²² (2008): forte/boa atividade (CIM: <100 µg/mL); atividade moderada (CIM: 100–500 µg/mL); fraca atividade (CIM: 500–1000 µg/mL); e produto inativo/sem atividade antimicrobiana (CIM: >1000 µg/mL). De acordo com Satoratto et al.²¹ o óleo essencial de *C. winterianus* demonstrou uma forte atividade antifúngica contra *Candida* não-*albicans* pois seus valores de CIM são inferiores a 500 µg/mL. Na literatura, o óleo essencial de *C. winterianus* já demonstrou ser ativo contra bactérias e fungos²³, incluindo *Candida albicans* e não-*albicans*^{11,20}.

Anfotericina B e fluconazol são amplamente utilizados como os agentes terapêuticos nos casos de candidemia em pacientes pediátricos devido a sua eficácia, ainda que a toxicidade da anfotericina B limite seu uso²⁴. De acordo com os resultados obtidos e com os critérios de Morales et al.²², anfotericina B e fluconazol apresentaram ótimo efeito antifúngico contra *Candida* não-*albicans*, uma vez que seus valores de CIM foram inferiores a 100 µg/mL.

De acordo com Hafidh et al.²⁵ a relação CFM/CIM é usada para especificar a natureza do efeito antimicrobiano contra um patógeno particular. Quando a relação CFM/CIM está entre 1/1 e 2/1, o produto químico é considerado fungicida. Por outro lado, se a razão é > 2:1, é mais provável que seja fungistático.

Neste estudo, a razão CFM/CIM do óleo essencial de *C. winterianus* apresentou efeito fungicida contra a maioria das cepas testadas, exceto contra *Candida parapsilosis* (AM-05), onde agiu como fungistático. O uso extensivo de agentes fungistáticos tem promovido o aparecimento de cepas resistentes, comprometendo o sucesso da terapia antifúngica. Por este motivo, substâncias fungicidas são desejáveis pois tem menores chances de provocar o aparecimento de resistência nas cepas clínicas²⁶.

Os achados deste trabalho são relevantes e encorajadores para conduzir mais estudos envolvendo o óleo essencial de *C. winterianus*, especialmente sobre a elucidação do seu mecanismo de ação.

CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que o óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* possui atividade antifúngica significativa contra os isolados de *Candida* não-*albicans* de importância clínica pediátrica. Desta forma, este trabalho possui

relevância por contribuir com o desenvolvimento de novas alternativas para o arsenal terapêutico existente. Contudo, são necessários mais estudos para investigar o mecanismo de ação exercido pelo óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* sobre a célula fúngica.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

REFERÊNCIAS

1. Steinbach WJ. Pediatric invasive candidiasis: epidemiology and diagnosis in children. *J Fungi* (Basel). 2016;2(1):5.
2. Ruiz LS, Khouri S, Hahn RC, da Silva EG, de Oliveira VK, Gandra RF et al. Candidemia by species of the *Candida parapsilosis* complex in children's hospital: prevalence, biofilm production and antifungal susceptibility. *Mycopathologia*. 2013;175(3-4):231-39.
3. Oliveira VKP, Ruiz LS, Oliveira NAJ, Moreira D, Hahn RC, Melo ASA et al. Fungemia caused by candida species in a Children's Public Hospital in the city of São Paulo, Brazil: study in the period 2007-2010. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2014;56(4):301-5.
4. Morace G, Borghi E, Iatta R, Amato G, Andreoni S, Brigante G et al. Antifungal susceptibility of invasive yeast isolates in Italy: the GISIA3 study in critically ill patients. *BMC Infect Dis*. 2011;11:130.
5. Khan SMA, Malik A, Ahmad I. Anti-candidal activity of essential oils alone and in combination with amphotericin B or fluconazole against multi-drug resistant isolates of *Candida albicans*. *Med Mycol*. 2012;50(1):33-42.
6. Svetaz L, Agüero MB, Alvarez S, Luna L, Feresin G, Derita M et al. Antifungal activity of *Zuccagnia punctata* Cav.: evidence for the mechanism of action. *Planta Med*. 2007;73(10):1074-80.
7. Ganjewala D, Silviya S, Khan HK. Biochemical composition and antibacterial activities of *Lantana* Camera plants with yellow, lavender, red and white flowers. *EurAsia J BioSci*. 2009;3:69-77.
8. Scazzocchio F, Garzoli S, Conti C, Leone C, Renaioli C, Pepi F et al. Properties and limits of some essential oils: chemical characterisation, antimicrobial activity, interaction with antibiotics and cytotoxicity. *Nat Prod Res*. 2016;30(17):1909-18.
9. Silva MR, Ximenes RM, da Costa JG, Leal LK, de Lopes AA, Viana GS. Comparative anticonvulsant activities of the essential oils (EOs) from *Cymbopogon winterianus* Jowitt and *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. in mice. *Naunyn Schmiedebergs Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2010;381(5):415-26.
10. Silva CT, Wanderley-Teixeira V, Cunha FM, Oliveira JV, Dutra KA, Navarro DM et al. Biochemical parameters of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) treated with citronella oil (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor) and its influence on reproduction. *Acta Histochem*. 2016;118(4):347-52.
11. Oliveira WA, Pereira FO, Luna GCDG, Lima IO, Wanderley PA, Lima RB et al. Antifungal activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor against *Candida albicans*. *Braz J Microbiol*. 2011;42(2):433-41.
12. Eloff JN. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Med*. 1998;64(8):711-13.
13. Hadacek F, Greger H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. *Phytochem Anal*. 2000;11(3):137-47.
14. CLSI. Clinical and laboratory standards institute. protocol M27-A3. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. 3ed. Wayne, PA, USA. 2008.
15. Espinel-Ingroff A, Chaturvedi V, Fothergill A, Rinaldi MG. Optimal testing conditions for determining MICs and minimum fungicidal concentrations of new and established antifungal agents for uncommon molds: NCCLS collaborative study. *J Clin Microbiol*. 2002;40(10):3776-81.
16. Falagas ME, Roussos N, Vardakas KZ. Relative frequency of 3 *albicans* and the various non-*albicans* *Candida* spp among candidemia isolates from inpatients in various parts of the world: a systematic review. *Int J Infect Dis*. 2010;14(11):e954-66.
17. Nucci M, Queiroz-Telles F, Alvarado-Matute T, Tiraboschi IN, Corte J, Zurita J et al. Epidemiology of candidemia in Latin America: a laboratory-based survey. *Plos One*. 2013;8(3):e59373.
18. Simões ER, Santos EA, de Abreu MC, Silva JN, Nunes NM, da Costa MP et al. Biomedical properties and potentiality of *Lippia microphylla* Cham. and its essential oils. *J Intercult Ethnopharmacol*. 2015;4(3):256-63.
19. Bilia AR, Santomauro F, Sacco C, Bergonzi MC, Donato R. Essential Oil of *Artemisia annua* L.: An Extraordinary Component with Numerous Antimicrobial Properties. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014; 2014:159819.
20. Duarte MCT, Figueira G M, Sartoratto A, Rehder VLG, Delarmelina C. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. *J Ethnopharmacol*. 2005;97(2):305-11.

21. Sartoratto A, Machado ALM, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MCT, Rehder VLG. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Braz J Microbiol.* 2004;35(4):275-80.
22. Morales G, Paredes A, Sierra P, Loyola LA. Antimicrobial activity of three baccharis species used in the traditional medicine of Northern Chile. *Molecules.* 2008;13(4):790-94.
23. Oliveira WA, Arrua JMM, Wanderley PA, Lima RB, Lima EO. Effects of the essential oil of *Cymbopogon winterianus* against *Candida albicans*. *Rev Pan-Amaz Saude.* 2015;6(3):21-6.
24. Tragiannidis A, Tsoulas C, Groll AH. Invasive candidiasis and candidaemia in neonates and children: update on current guidelines. *Mycoses* 2015;58(1):10-21.
25. Hafidh RR, Abdulmir AS, Vern LS, Bakar FA, Abas F, Jahanshiri F et al. Inhibition of growth of highly resistant bacterial and fungal pathogens by a natural product. *Open Microbiol J.* 2011;5:96-106.
26. Monk BC, Goffeau A. Outwitting multidrug resistance to antifungals. *Sci.* 2008;321(5887):367-69.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

AUTOR PARA CORRESPONDENCIA

Hermes Diniz Neto

hermes.dn@hotmail.com

Submetido em 17/01/2019

Aceito em 12/03/2019