

Atividade antifúngica de óleos essenciais frente a *Candida* spp.**Antifungal activity of essential oils against *Candida* spp.**

DOI:10.34119/bjhrv3n1-007

Recebimento dos originais: 30/11/2019

Aceitação para publicação: 07/01/2020

Simone Krause Ferrão

M.a Farmacêutica- discente no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da
Faculdade de Farmácia da UFRGS

Instituição: Faculdade de Farmácia da UFRGS

Endereço: Av. Ipiranga, 2752 - Azenha, Porto Alegre - RS, 90610-000

Juliana Butzge

Biomédica- discente no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da
Faculdade de Farmácia da UFRGS

Instituição: Faculdade de Farmácia da UFRGS

Endereço: Av. Ipiranga, 2752 - Azenha, Porto Alegre - RS, 90610-000

Leticia Mezzomo

Discente no Curso de Farmácia na Faculdade de Farmácia da UFRGS

Instituição: Faculdade de Farmácia da UFRGS

Endereço: Av. Ipiranga, 2752 - Azenha, Porto Alegre - RS, 90610-000

Luciane Noal Calil

D.ra Farmacêutica- docente no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da
Faculdade de Farmácia da UFRGS

Instituição: Faculdade de Farmácia da UFRGS

Endereço: Av. Ipiranga, 2752 - Azenha, Porto Alegre - RS, 90610-000

Miriam Apel

D.ra Farmacêutica- docente no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da
Faculdade de Farmácia da UFRGS

Instituição: Faculdade de Farmácia da UFRGS

Endereço: Av. Ipiranga, 2752 - Azenha, Porto Alegre - RS, 90610-000

Adelina Mezzari

D.ra Farmacêutica- docente no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da
Faculdade de Farmácia da UFRGS

Instituição: Faculdade de Farmácia da UFRGS

Endereço: Av. Ipiranga, 2752 - Azenha, Porto Alegre - RS, 90610-000

Renata Pereira Limberger

D.ra Farmacêutica- docente no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da
Faculdade de Farmácia da UFRGS

Instituição: Faculdade de Farmácia da UFRGS

Endereço: Av. Ipiranga, 2752 - Azenha, Porto Alegre - RS, 90610-000

RESUMO

A candidíase é uma micose oportunista causada por leveduras do gênero *Candida*, que fazem parte da microbiota humana. Vários fatores podem predispor ao desenvolvimento de candidíase oral, como xerostomia, imunossupressão e uso de próteses dentárias. Os principais fatores epidemiológicos da candidíase dependem da predisposição do hospedeiro, carga parasitária e virulência fúngica. Em geral, o tratamento da candidíase oral utiliza a nistatina como primeira escolha. Quando este medicamento não é efetivo, pode-se empregar o fluconazol e o itraconazol. No entanto, nas últimas décadas, houve um grande aumento da resistência aos agentes antifúngicos utilizados na prática terapêutica. Isso justifica a necessidade de prospecção de novos agentes antifúngicos. Dessa forma, os óleos essenciais de plantas representam uma importante fonte renovável com potencial contra cepas resistentes. Este estudo tem como objetivo avaliar a atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Pelargonium graveolens* L'Her (gerânio; Geranaceae), *Cinnamomum cassia* L. (canela; Lauraceae), *Syzygium aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry (cravo; Myrtaceae) and *Myristica fragrans* Houtt (noz moscada; Myristicaceae) sobre *Candida* spp., através do método de microdiluição em caldo de acordo com o protocolo M-27 A2 recomendado pelo Comitê Nacional de Padrões de Laboratório Clínico (Aprovação no comitê de ética n. 2.236.863, CEP-UFRGS).

Palavras-chave: Cervical ectopic pregnancy, vaginal bleeding, Pregnancy, Methotrexate.

ABSTRACT

Candidiasis is an opportunistic mycosis caused by yeasts of the *Candida* genus, which is part of the human microbiota. Several factors may predispose the development of oral candidiasis, such as xerostomia, immunosuppression, and the use of dental prostheses. The mainly epidemiology factors of candidiasis depends on the predisposition of the host, parasitic loading and fungal virulence. In general, the treatment of oral candidiasis uses nystatin as the first choice. When this medicine is not effective, the use of fluconazole and itraconazole can be employed. However, in recent decades, there has been a great increase in resistance to the antifungal agents used in therapeutic practice. This justifies the necessity of prospecting for new antifungal agents. In this way, essential oils from plants represent an important renewable source with potential against resistant strains. This study aims to evaluate the antifungal activity of essential oils obtained from *Pelargonium graveolens* L'Her (v.n. geranium; Geranaceae), *Cinnamomum cassia* L. (v.n. cinnamon; Lauraceae), *Syzygium aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry (v.n. clove; Myrtaceae) and *Myristica fragrans* Houtt (v.n. nutmeg; Myristicaceae) against strains of *Candida* spp., by the broth microdilution assay according to the methodology M-27 A2 recommended by the National Committee for Clinical Laboratory Standards (Ethical approval 2.236.863, CEP-UFRGS).

Key words: *Candida*, essential oil, susceptibility, antifungal.

1 INTRODUÇÃO

A candidíase é uma micose oportunista causada por espécies do gênero *Candida*. Essas leveduras fazem parte da flora normal da cavidade oral, trato gastrointestinal e urinário de indivíduos sadios (GARCIA-CUESTA; SARRION-PEREZ; BAGAN, 2014; HANI et al., 2015).

A microbiota oral é composta por uma grande variedade de microrganismos como as leveduras do gênero *Candida*, os quais sobrevivem em condições de simbiose, que na maioria das vezes são comensais, não causando prejuízos ao organismo do hospedeiro (GERMANO et al., 2018). *C. albicans* é a espécie mais prevalente seguida de *C. tropicalis*, *C. guilhermondii*, *C. glabrata* e *C. parapslosis* (MARCO-ARIAS et al., 2009), *C. stellatoidea*, *C. krusei*, *C. kefyr*, e *C. dubliniensis* (FARAH; LYNCH; MCCULLOUGH, 2010). Múltiplas apresentações clínicas de candidíase, podem ocorrer sendo estas ser causadas por uma espécie isoladamente ou em infecção mista (FARAH; LYNCH; MCCULLOUGH, 2010; REINHARDT et al., 2019). As manifestações clínicas podem ocorrer desde formas superficiais e mais leves como a candidíase esofágica ou orofaríngea até as infecções graves, como a candidemia (COLOMBO; GUIMARÃES, 2003).

O isolamento de *Candida* spp. da cavidade oral não implica necessariamente em quadro de infecção (SAMARANAYAKE; SAMARANAYAKE, 2001; LEITE; PIVA; MARTINS FILHO, 2015). Sua prevalência assintomática em pessoas saudáveis varia de 3 a 48% (SCULLY; EI-KABIR; SAMARANAYAKE, 1994; ABU-ELTEEN; HAMAD; SALAH, 2006), sendo mais alto em crianças 20 a 45% (KADIR; UYGUN; AKYÜZ, 2005; SILVA et al., 2015) e 50-75% em usuários de próteses dentárias (DARWAZEH; AL-REFAI; AL-MOJAIWEL, 2001; MARCOS-ARIAS et al., 2009).

Para o tratamento da candidíase oral podem ser utilizados antifúngicos tópicos ou sistêmicos, em diferentes formas farmacêuticas. O Guideline for the Management of Candidiasis (2016) preconiza nistatina tópica como tratamento de primeira escolha para candidíase oral. Outros antifúngicos, como fluconazol e itraconazol podem ser indicados quando o tratamento tópico foi ineficiente (GARCIA-CUESTA; SARRION-PEREZ; BAGAN, 2014; MIRANDA-CADENA et al., 2018). Em casos severos de candidíase orofaríngea faz-se o uso de voriconazol, anfotericina B ou as equinocandinas - caspofungina, micafungina e anidulafungina (PAPPAS et al., 2016). A maioria das espécies de *Candida* spp. tem apresentado boa susceptibilidade frente aos antifúngicos azólicos, no entanto a *C. glabrata* tem sido menos susceptível e a *C. krusei* apresentando resistência intrínseca ao fluconazol (KATHIRAVAN et al., 2012; MIRANDA-CADENA et al., 2018). Existem relatos também de casos de resistência da *C. albicans* frente a anfotericina B e nistatina (MONTEIRO et al., 2019), fluconazol (CHANDRA et al., 2001), itraconazol (GOULART et al., 2018) e cetoconazol (YUMI et al., 2004).

Com o aumento dos casos de resistência antifúngica, surge a necessidade constante de prospecção de novos agentes terapêuticos (PFALLER, 2012), já que o ritmo de desenvolvimento de medicamentos antifúngicos não acompanha o ritmo das necessidades clínicas, especialmente no que tange ao desenvolvimento da resistência fúngica (LEE; LEE, 2018). Nesse sentido, as drogas vegetais representam uma importante fonte para a busca de outros agentes terapêuticos com potencial renovável frente a cepas resistentes (SCORZONI et al., 2016). Nesse sentido, o estudo da atividade antifúngica de óleos essenciais tem apresentado resultados promissores.

Face ao exposto, este estudo tem como objetivo avaliar a atividade antifúngica dos óleos essenciais (OEs) de *Pelargonium graveolens* L'Her (gerânio; Geranaceae, **OEGe**), *Cinnamomum cassia* L. (canela; Lauraceae; **OECa**), *Syzygium aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry (cravo; Myrtaceae; **OECr**) e *Myristica fragrans* Houtt (noz moscada; Myristicaceae; **OENZ**) frente a *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida lusitanae* e *Candida tropicalis*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MICRORGANISMOS, MANUTENÇÃO E PREPARAÇÃO DO INÓCULO

Os microrganismos utilizados neste estudo são isolados clínicos de *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida lusitanae* e *Candida tropicalis* de pacientes usuários de próteses dentárias (Aprovação no comitê de ética n. 2.236.863, CEP-UFRGS) cedidos pelo Laboratório Biomicolab (Laboratório de Micologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul). Foram escolhidos isolados de *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida lusitanae* e *Candida tropicalis* sensíveis e resistentes ao fluconazol. As culturas estoque foram mantidas em meio de congelamento Caldo Tripticaseína de Soja (TSB; Himedia®) acrescido de 10% de glicerol à -18 °C. Para a reativação das cepas, foram inoculados 10 µL da cultura estoque em tubos contendo Agar Sabouraud dextrose com cloranfenicol (Kasvi®) e incubados a 30 °C por 48 h. Os óleos essenciais empregados foram obtidos de amostras comerciais e através de destilação por arraste de vapor segundo metodologia preconizada pela Farmacopéia Brasileira 4ed. (2009), listados na tabela 1.

Tabela 1: Constituintes químicos dos óleos essenciais.

OEs	Rendimento	Constituintes majoritários	Hidrodestilação
Cravo	6-14%	Eugenol	botões florais secos
Canela	1 %	trans-cinamaldeído	casca

Gerânio	1 a 1,3 %	geraniol linalol citronelol	partes aéreas
Noz moscada	1,6 a 2,7 %	sabineno, terpin-4-ol, miristicina, elimicina e limoneno	sementes

Fonte: FARMACOPÉIA BRASILEIRA 4ed. (2009); BLANK et al., 2012; SWEETMAN, 2011; VORIS et al., 2017.

2.2 SUSCEPTIBILIDADE AOS ÓLEOS

A atividade antifúngica dos óleos foi avaliada pela determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo essencial *Pelargonium graveolens* L'Her, *Cinnamomum cassia* L. *Syzygium aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry, e *Myristica fragrans* Houtt frente as leveduras do gênero *Candida* spp. pelo método de microdiluição em caldo conforme recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI (CLSI, 2002; 2007). Os óleos foram dissolvidos em dimetil sulfoxido - DMSO (Nuclear®). Os intervalos utilizados para os óleos essenciais utilizados foram de 1000 a 0,488 µg/ml (MAGIATIS et al., 1999) e de 64 - 0,12 µg/ml para o fluconazol (Polydrug Laboratorie Private Limited/India). A Cultura de *Candida* (10^3 UFC/mL) em RPMI 1640 (Sigma Aldrich®) foram adicionados aos poços de microplaca para detectar a ação do óleo. As microplacas foram incubadas a 30°C e inspecionadas após 24 e 48h para verificação visual do crescimento (CLSI, 2002; 2007; OLIVEIRA et al., 2016). O experimento foi realizado com três repetições. A CIM foi considerada a menor concentração de óleo capaz de inibir completamente o crescimento microbiano visível a olho nu. Para avaliação dos resultados foram utilizados os pontos de corte fluconazol: sensíveis (S) ≤ 8 µg/mL, sensíveis dose-dependente (SDD) 16-32 µg/mL, resistentes (R) > 64 µg/mL e para os óleos essenciais foi utilizada a definição proposta por Duarte e colaboradores (2005) que considera a atividade antifúngica como forte quando MIC abaixo de 500 µg/ml, moderada MIC compreendidos entre 510 e 1000 µg/ml e fraca MIC acima de 1100 µg/ml (DUARTE et al., 2005).

2.3 CURVA DE SOBREVIVÊNCIA

O ensaio da curva de morte de *C.gabrata*, *C. albicans*, *C. lusitanae* e *C. tropicalis* foi realizado como descrito anteriormente (KLEPSEK et al., 1998). Uma alíquota de 100 microlitros de um inóculo inicial 10^4 UFC/ mL foi adicionada a placa de 96 poços e posteriormente acrescentado 100 µL de cada óleo essencial nas concentrações de 0,5 e 1 CIM.

As amostras foram incubadas a 30°C por 24h. Foi verificado o número de unidades formadoras de colônia (UFC) nos tempos 0, 6, 12 e 24 h através de diluição seriada. As experiências foram realizadas em triplicata. O limite mínimo de detecção deste método é de 100 UFC/ ml (KLEPSEK et al., 1997). Após o período de incubação, o número de células viáveis foi contado e expresso em log de ufc / ml.. Os gráficos da curvas de sobrevivência foram construídos com o auxílio do software Prisma (GRAPHPAD SOFTWARE, 2007). A atividade fungicida é considerada quando verificada uma redução mínima de crescimento de 99,9% do inóculo inicial em 24 h (diminuição do número de UFC/ml maior ou igual a 3 log 10 UFC/ml). (KLEPSEK et al., 1997). Sendo assim a atividade fungistática foi considerada quando constatada uma redução no crescimento menor que 99,9% ou <3 log10 em UFC/ ml a partir do inóculo inicial em 24h de incubação a 30°C.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os óleos essenciais são considerados fontes promissoras para a prospecção de novos agentes terapêuticos frente a cepas resistentes. A atividade antifúngica dos óleos essenciais de cravo, canela, gerânio e noz moscada tem sido objeto de vários estudos (DIAS et al., 2018; DŽAMIĆ et al., 2014; KERPEL DOS SANTOS, 2018; MAHBOUBI; MAHDIZADEH; HEIDARYTABAR, 2018), estes óleos apresentam grande importância econômica, sendo utilizados na indústria de alimentos e na área de cosméticos.

Os resultados referentes à CIM dos óleos essenciais estão dispostos na tabela 2.

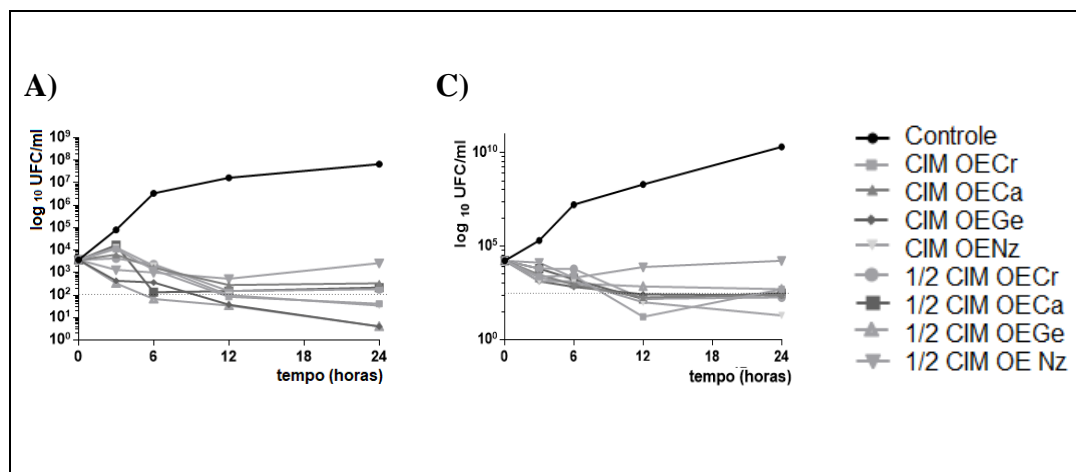
Observou-se que todas as cepas avaliadas foram sensíveis aos óleos de *Cinnamomum cassia* L. (canela; Lauraceae; **OECa**) de *Syzygium aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry (cravo; Myrtaceae; **OECr**) *Pelargonium graveolens* L'Her (gerânio; Geranaceae, **OEGe**) e *Myristica fragrans* Houtt (noz moscada; Myristicaceae; **OENz**), apresentando forte (CIM ≤ 500 µg/ml) ou moderada atividade antifúngica (CIM ≤ 1000 µg/ml). Os melhores resultados foram obtidos com os óleos de cravo e canela com CIM de 250 a 15,62 µg/ml para cravo e 500 a 15,62 µg/ml para canela frente as cepas avaliadas. Os óleos de gerânio e noz moscada apresentaram forte atividade antifúngica para 10 dos isolados clínicos estudados e moderada atividade antifúngica frente a um isolado de *C.glabrata*.

Tabela 2: Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos óleos essenciais (OEs) de OECa, OECr, OEGe e OENz

CIM (µg/ml)	OECa	OECr	OEGe	OENz	Fluconazol
<i>C. albicans</i> C21	500	250	500	500	2
<i>C. albicans</i> M39	15,62	31,25	125	250	0,25
<i>C. albicans</i> M42	31,25	31,25	62,5	250	16
<i>C. albicans</i> M46	125	31,25	125	250	>64
<i>C. glabrata</i> M40	62,5	15,62	250	125	0,5
<i>C. glabrata</i> M47	500	250	1000	1000	8
<i>C. lusitanae</i> M08	31,25	62,5	250	250	1
<i>C. lusitanae</i> M23	250	125	125	250	2
<i>C. tropicalis</i> M20	125	250	500	31,25	2
<i>C. tropicalis</i> M32	15,62	62,5	62,5	125	64
<i>C. tropicalis</i> M45	125	31,25	125	500	2
Média	161,64	103,69	284,09	321,02	

Para o fluconazol é interpretado como sensíveis (S) $\leq 8 \mu\text{g/mL}$, sensíveis dose-dependente (SDD) $16\text{-}32 \mu\text{g/mL}$, resistentes (R) $> 64 \mu\text{g/mL}$ (CLSI, 2007). Como atividade antifúngica forte quando CIM abaixo de $500 \mu\text{g/mL}$, moderada CIM compreendidos entre 510 e $1000 \mu\text{g/mL}$ e fraca CIM acima de $1100 \mu\text{g/mL}$ (DUARTE et al., 2005).

Nos ensaios para determinação de curva de sobrevivência estão apresentados os valores de log de UFC/ mL em função do tempo (Figura 1). A análise destes dados para *C.albicans*, *C.glabrata*, *C.tropicalis* e *C.lusitanae* demonstrou efeito fungicida nas concentrações de $0,5$ CIM e CIM, após 6 h, de acordo com os critérios estabelecidos por Klepser e colaboradores (1997), diminuição na concentração de UFC, expressa em \log_{10} UFC/mL ≥ 3 . (Figura 1).



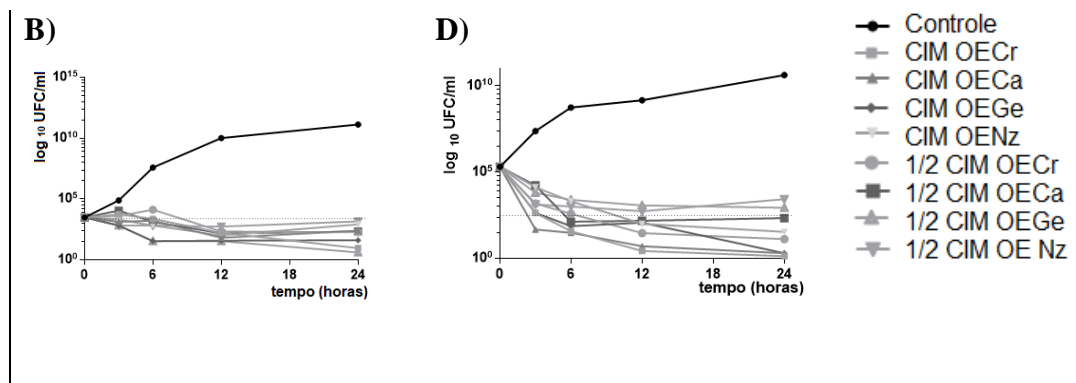


Figura 1: Curva de sobrevivência A) *C. albicans* M39; B) *C. tropicalis* M45; C) *C. glabrata* M40; e D) *C. lusitanae* M08 para o óleo de cravo, canela, gerânio e noz moscada nas concentrações de CIM e 1/2 CIM.

A atividade antifúngica do óleo essencial de gerânio foi avaliada frente a cepas de *C. albicans* apresentando um CIM de 250 $\mu\text{g/ml}$ (DŽAMIĆ et al., 2014), e frente *Candida* spp. em pesquisa desenvolvida por Essid e colaboradores (2017) obtendo resultados de CIM entre 500 e 250 $\mu\text{g/ml}$ para 10 dos 11 isolados estudados (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. riferii*) e um CIM de 1000 CIM $\mu\text{g/ml}$ para uma cepa de *C. albicans*. e CIM de 256 a 128 $\mu\text{g/ml}$ em estudos prévios pelo nosso grupo de pesquisa onde foram analisados óleos provenientes de diferentes regiões frente a *Candida* spp. (KERPEL DOS SANTOS, 2018), que corroboram com os resultados obtidos neste estudo, onde obtivemos a CIM entre 500 a 125 $\mu\text{g/ml}$ frente a *C. albicans*. O óleo de gerânio obtido através de hidrodestilação das partes aéreas da planta apresenta um rendimento de 1 a 1,3 % (BLANK et al., 2012) e seus principais constituintes são o geraniol, citronelol e linalol (MAHBOUBI; MAHDIZADEH; HEIDARYTABAR, 2018; MOUTAOUAFIQ et al., 2019). Estudos recentes atribuem a sua atividade antifúngica ao geraniol, citronelol (MAHBOUBI; MAHDIZADEH; HEIDARYTABAR, 2018) e linalol (DIAS et al., 2018).

O óleo de cravo já apresentou atividade antifúngica frente a *Candida* spp., *Aspergillus* spp. e espécies de dermatófitos (PINTO et al., 2009). Quando testado frente a *C. albicans* apresentou CIM de 93 a 77 $\mu\text{g/ml}$ (PINTO et al., 2009). Em nosso estudo obtivemos valores de CIM de 250 a 31,25 $\mu\text{g/ml}$ para *C. albicans* e valores de 250 a 15,62 $\mu\text{g/ml}$ para as outras espécies avaliadas (não-*albicans*). O óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de botões florais secos é constituído majoritariamente de eugenol, em torno de 85% (FARMACOPÉIA, 2010), um estudo anterior constatou a ação antifúngica deste com valores de CIM entre 67 a 19 $\mu\text{g/ml}$ para o eugenol, o que condiz com os valores de CIM do óleo quando verificado sua constituição química (PINTO et al., 2009).

A atividade antifúngica do óleo essencial de *C. cassia* (canela) frente a *C. albicans* ATCC 90029 obteve valores de CIM de 500 µg/ml /mL (GIORDANI et al., 2006), e em outro estudo quando avaliado frente a *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. krusei* apresentou CIM de 138, 225, 450 e 110 µg/ml respectivamente (OOI et al., 2006), e CIM de 62,5 µg/ml frente a *C. glabrata* resistente ao fluconazol (ALMEIDA et al., 2017). Estes dados corroboram com nossos resultados onde obtivemos valores de CIM de 500 a 31,25 µg/ml para *C. albicans*, de 125 a 15,62 µg/ml para *C. tropicalis* e de 500 a 62,5 µg/ml para *C. glabrata*, onde verificou-se forte atividade antifúngica para todas as espécies pesquisadas estando de acordo com Duarte e colaboradores (2005), onde a CIM deve ser considerada abaixo de 500 µg/ml. O óleo essencial de *Cinammomum. cassia* L pode ser extraído de folhas ou ramos jovens e é constituído predominantemente por trans-cinamaldeído e possui um rendimento mínimo de 1% (FARMACOPÉIA, 2010).

O óleo essencial de noz moscada proveniente das Ilhas de Andamão quando testado frente a *C. albicans* não demonstrou atividade pelo método de Kirk Bauer (PAL. MAHESH. et al., 2011). Estes dados diferem dos nossos resultados onde verificamos forte atividade antifúngica. Isso pode ser explicado pelos diferentes níveis de miristicina e elimicina nos dois óleos. Esta composição química divergente poderia ser resultado de vários parâmetros como estágio de desenvolvimento da planta, origem geográfica, condições de armazenamento, temperatura, nutrição (CHATZOPOULOU; KATSIOTIS, 1995).

A análise destes dados para *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. lusitanae* mostrou efeito fungicida nas concentrações de ½ CIM e CIM, após 6 h, de acordo com os critérios estabelecidos por Klepser e colaboradores (1997), diminuição na concentração de UFC, expressa em \log_{10} UFC/mL é ≥ 3 . (Figura 1). Observou-se também um aumento do número UFC/ml na *C. tropica*

O mecanismo de ação dos óleos essenciais tem sido investigado em vários estudos (ESSID et al., 2017; MIRON et al., 2014; NAZZARO et al., 2017). A natureza lipofílica dos componentes terpenóides pode provocar rupturas nas membranas das células fúngicas levando à morte das mesmas (NAZZARO et al., 2017); a ligação dos monoterpenos ao ergosterol ocasionando a desestabilização das membranas celulares dos fungos (MIRON et al., 2014), pela inibição da biossíntese do ergosterol (ESSID et al., 2017); bloqueando o crescimento de leveduras como *Candida albicans*, através da inibição do seu crescimento na fase S do ciclo celular, atuando na via de sinalização da morfogênese das pseudohifas ou impedindo a

formação de biofilmes resistentes aos fármacos utilizados no tratamento de infecções causadas por espécies de *Candida* spp. (AGARWAL; LAL; PRUTHI, 2008).

Os OEs analisados possuem rendimentos de extração de 1 a 14%, sendo portanto um recurso viável e renovável. Diante do exposto, os óleos essenciais de cravo, canela, gerânio e noz moscada apresentaram efeitos positivos frente a inibição do crescimento de *C.albicans*, *C.glabrata*, *C.tropicalis* e *C.lusitanae*, constituindo uma alternativa para o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos no tratamento da candidíase. Entretanto, outros estudos devem ser realizados como toxicidade, desenvolvimento de formulações, determinação de concentrações ideais, cinética de crescimento, interações farmacológicas, antes que possam serem aplicados na clínica odontológica.

4 CONCLUSÃO

Os óleos essenciais estudados apresentaram promissora atividade antifúngica frente aos isolados clínicos de *Candida* spp sensíveis e resistentes ao fluconazol.

REFERÊNCIAS

- ABU-ELTEEN, K. H.; HAMAD, M. A.; SALAH, S. A. Prevalence of oral candida infections in diabetic patients. **Bahrain Medical Bulletin**, v. 28, n. 1, 2006.
- AGARWAL, V.; LAL, P.; PRUTHI, V. Prevention of *Candida albicans* biofilm by plant oils. **Mycopathologia**, v. 165, n. 1, p. 13–19, 2008.
- ALMEIDA, L. D. F. D. et al. ATIVIDADE INIBITÓRIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS VEGETAIS FRENTE À *CANDIDA GLABRATA*, RESISTENTE A FLUCONAZOL. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 21, n. 2, p. 131–138, 2017.
- BLANK, A. F. et al. Plant spacing and harvest intervals on biomass and essential oil of geranium | Espaçamento de plantio e intervalos de colheita na biomassa e no óleo essencial de gerânio. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 740–746, 2012.
- CHANDRA, J. et al. Antifungal resistance of Candidal biofilms formed on denture acrylic in vitro. **Journal of Dental Research**, v. 80, n. 3, p. 903–908, 2001.
- CHATZOPOULOU, P. S.; KATSIOTIS, S. T. Procedures influencing the yield and the quality of the essential oil from *juniperus communis* L. berries. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v. 70, n. 3, p. 247–253, 1995.

CLSI. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts ; approved standard — second edition. [s.l: s.n.]. v. 22

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. [s.l: s.n.].

COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T. Epidemiology of hematogenous infections due to *Candida* spp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 5, p. 599–607, 2003.

DARWAZEH, A. M.-G.; AL-REFAI, S.; AL-MOJAIWEL, S. Isolation of *Candida* species from the oral cavity and fingertips of complete denture wearers. **The Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 86, n. 4, p. 420–423, 1 out. 2001.

DIAS, I. J. et al. Antifungal activity of linalool in cases of *Candida* spp. isolated from individuals with oral candidiasis. **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, n. 2, p. 368–374, 2018.

DUARTE, M. C. T. et al. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, n. 2, p. 305–311, 2005.

DŽAMIĆ, A. M. et al. Chemical composition, antifungal and antioxidant activity of *Pelargonium graveolens* essential oil. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 4, n. 3, p. 1–5, 2014.

ESSID, R. et al. Antifungal mechanism of the combination of *Cinnamomum verum* and *Pelargonium graveolens* essential oils with fluconazole against pathogenic *Candida* strains. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, n. 18, p. 6993–7001, 2017.

FARAH, C. S.; LYNCH, N.; MCCULLOUGH, M. J. Oral fungal infections: an update for the general practitioner. **Australian dental journal**, v. 55, n. 1, p. 48–54, 2010.

FARMACOPÉIA, A. N. D. V. S. Farmacopeia Brasileira. **Farmacopeia Brasileira, 5ª edição**, v. 1, p. 1–523, 2010.

GARCIA-CUESTA, C.; SARRION-PEREZ, M. G.; BAGAN, J. V. Current treatment of oral candidiasis: A literature review. **J Clin Exp Dent**, v. 6, n. 5, p. e576-82, 2014.

GERMANO, V. E. et al. MICRORGANISMOS HABITANTES DA CAVIDADE ORAL E SUA RELAÇÃO COM PATOLOGIAS ORAIS E SISTÊMICAS: REVISÃO DE LITERATURA. **Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança**, v. 16, n. 2, p. 91–99, 2018.

GIORDANI, R. et al. Potentiation of antifungal activity of amphotericin B by essential oil from *Cinnamomum cassia*. **Phytotherapy Research**, v. 20, n. 1, p. 58–61, 2006.

GOULART, L. S. et al. Oral colonization by *Candida* species in HIV-positive patients: association and antifungal susceptibility study. **Einstein (São Paulo)**, v. 16, n. 3, p. 1–6, 2018.

GRAPHPAD SOFTWARE. **GraphPad PRISM6.0**, 2007.

HANI, U. et al. Candidiasis: A fungal infection- current challenges and progress in prevention and treatment. **Infectious Disorders - Drug Targets**, v. 15, n. 1, p. 42–52, 2015.

KADIR, T.; UYGUN, B.; AKYÜZ, S. Prevalence of Candida species in Turkish children: relationship between dietary intake and carriage. **Archives of Oral Biology**, v. 50, n. 1, p. 33–37, 1 jan. 2005.

KATHIRAVAN, M. K. et al. **The biology and chemistry of antifungal agents: A review***Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2012.

KERPEL DOS SANTOS, M. **Estudo dos óleos essenciais de espécies de Pelargonium (Geraniaceae) e de suplementos alimentares e compostos emagrecedores contendo 1,3-dimetilamilamina: uma abordagem química, antifúngica e forense**Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Doutorado da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul., 2018.

KLEPSEK, M. E. et al. Antifungal pharmacodynamic characteristics of fluconazole and amphotericin B tested against Candida albicans. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 41, n. 6, p. 1392–1395, 1997.

KLEPSEK, M. E. et al. Influence of test conditions on antifungal time-kill curve results: Proposal for standardized methods. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 42, n. 5, p. 1207–1212, maio 1998.

LEE, H.; LEE, D. G. Novel Approach into Efficient Antifungal Drug Action. **Journal of microbiology and biotechnology**, 2018.

LEITE, D. P.; PIVA, M. R.; MARTINS FILHO, P. R. S. Identificação das espécies de Candida em portadores de estomatite protética e avaliação da susceptibilidade ao miconazol e à terapia fotodinâmica. **Rev Odontol UNESP. Jan.-Feb.**, v. 44, n. 1, p. 12–17, 2015.

MAGIATIS, P. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of Pistacia lentiscus var. chia. **Planta Medica**, v. 65, n. 8, p. 749–752, 1999.

MAHBOUBI, M.; MAHDIZADEH, E.; HEIDARYTABAR, R. The anti-candidal activity of Pelargonium graveolens essential oils against clinical isolates of Candida albicans. **Infectio**, v. 22, n. 1, p. 9–12, 2018.

MARCOS-ARIAS, C. et al. Isolation of Candida dubliniensis in denture stomatitis. **Archives of Oral Biology**, v. 54, n. 2, p. 127–131, 2009.

MIRANDA-CADENA, K. et al. Prevalence and antifungal susceptibility profiles of Candida glabrata, Candida parapsilosis and their close-related species in oral candidiasis. **Archives of**

Oral Biology, v. 95, n. 1, p. 100–107, 2018.

MIRON, D. et al. Antifungal activity and mechanism of action of monoterpenes against dermatophytes and yeasts. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 24, n. 1, p. 660–667, 2014.

MONTEIRO, L. C. et al. Candida on oral cavity of pediatric individuals with ALL and its susceptibility to nystatin and amphotericin B. **RGO - Revista Gaúcha de Odontologia**, v. 67, 2019.

MOUTAOUAFIQ, S. et al. **Antifungal Activity of Pelargonium graveolens Essential Oil and its Fractions Against Wood Decay Fungi** *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2019.

Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/0972060X.2019.1646164?needAccess=true>

NAZZARO, F. et al. **Essential oils and antifungal activity** *Pharmaceuticals*, 2017.

OLIVEIRA, L. B. S. et al. Atividade antifúngica e possível mecanismo de ação do óleo essencial de folhas de ocimum gratissimum (linn.) sobre espécies de candida. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 2, p. 511–523, 2016.

OOI, L. S. M. et al. Antimicrobial activities of Cinnamon oil and cinnamaldehyde from the Chinese medicinal herb Cinnamomum cassia Blume. **American Journal of Chinese Medicine**, v. 34, n. 3, p. 511–522, 2006.

PAL. MAHESH. et al. Composition and anti-microbial activity of essential oil of Myristica fragrans from Andaman Nicobar Island. **INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACY & LIFE SCIENCES**, v. 2, n. 10, p. 1115–1117, 2011.

PFALLER, M. A. Antifungal drug resistance: Mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. **American Journal of Medicine**, v. 125, n. 1 SUPPL., 2012.

PINTO, E. et al. Antifungal activity of the clove essential oil from Syzygium aromaticum on Candida, Aspergillus and dermatophyte species. **Journal of Medical Microbiology**, v. 58, n. 11, p. 1454–1462, 2009.

REINHARDT, L. C. et al. **Sensitivity to antifungals by Candida spp samples isolated from cases of chronic atrophic candidiasis (CAC)** *Brazilian Journal of Biology* Instituto Internacional de Ecologia, , 4 jul. 2019. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842019005007103&tlng=en. Acesso em: 18 out. 2019

SAMARANAYAKE, Y. H.; SAMARANAYAKE, L. P. Experimental oral candidiasis in animal models. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 2, p. 398–429, 2001.

SCORZONI, L. et al. Searching new antifungals: The use of in vitro and in vivo methods for evaluation of natural compounds. **Journal of Microbiological Methods**, v. 123, n. 1, p. 68–78, 2016.

SCULLY, C.; EI-KABIR, M.; SAMARANAYAKE, L. P. **Candida and oral candidosis: A review** **Critical Reviews in Oral Biology and Medicine**, 1994.

SILVA, F. C. et al. Prevalence of Candida yeasts in oral samples from children with AIDS and children exposed and not exposed to HIV served by SUS in the state of Bahia, Brazil. **RGO - Revista Gaúcha de Odontologia**, v. 63, n. 1, p. 07–12, 2015.

SWEETMAN, C. **Martindale. The Complete Drug Reference - 37th**, 2011.

VALENTE, V. M. M. et al. Composition and antifungal activity of the brazilian myristica fragrans houtt essential oil. **Journal of Food Safety**, v. 31, n. 3, p. 197–202, 2011.

VORIS, D. G. DA R. et al. Estudos Etnofarmacológicos de óleos essenciais com atividade larvicida contra o Mosquito Aedes Aegypt. **Semioses**, v. 11, n. 1, p. 1–9, 2017.

YUMI, C. et al. In vitro antifungal susceptibility of Candida spp . isolates from patients with chronic periodontitis and from control patients Suscetibilidade in vitro aos antifúngicos em cepas de Candida spp . isoladas de pacientes com periodontite crônica e de indivíd. **In Vitro**, v. 18, n. 1, p. 2–6, 2004.