

## **ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO GERANIOL CONTRA *CANDIDA NÃO-ALBICANS* DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA EM PEDIATRIA**

### **ANTIFUNGAL ACTIVITY OF GERANIOL AGAINST *CANDIDA NON-ALBICANS* OF CLINICAL IMPORTANCE IN PEDIATRICS**

**ANA LUÍSA DE ARAÚJO LIMA.** Doutora, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa - PB, Brasil.

**ABRAHÃO ALVES DE OLIVEIRA FILHO.** Doutor. Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos - PB, Brasil.

**ANA LUÍZA ALVES DE LIMA PÉREZ.** Doutora, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa - PB, Brasil.

**JANIERE PEREIRA DE SOUSA.** Doutora, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa - PB, Brasil.

**LILIAN SOUSA PINHEIRO.** Doutora, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos - PB, Brasil.

**HERMES DINIZ NETO.** Mestre, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa - PB, Brasil.

**JOSÉ PINTO DE SIQUEIRA JÚNIOR.** Doutor. Departamento de Biologia Molecular, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa - PB, Brasil.

**EDELTRUDES DE OLIVEIRA LIMA.** Doutora, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa - PB, Brasil.

Castelo Branco III, CEP: 58059-900, João Pessoa-PB, Brasil. E-mail: hermes.dn@hotmail.com

## **RESUMO**

Nas últimas décadas, tem ocorrido um aumento nos casos de infecções hospitalares provocadas por leveduras do gênero *Candida*, com notável crescimento da ocorrência de espécies não-*albicans*, com o agravante de que estas espécies normalmente apresentam resistência aos antifúngicos tradicionais. Na população pediátrica, este fato se torna uma grande preocupação devido as altas taxas de mortalidade. Já foi demonstrado que o monoterpeno geraniol possui diversas propriedades farmacológicas, incluindo atividade antifúngica. Diante destas premissas, foi avaliada a atividade antifúngica do geraniol, contra cepas de *Candida não-albicans* clinicamente importantes na pediatria. A concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração fungicida mínima (CFM) foram determinadas pelas técnicas de microdiluição em caldo. A CIM<sub>50</sub> do fitoconstituente foi estabelecida como 32 µg/mL, enquanto a CFM<sub>50</sub> para os isolados testados foi de 64 µg/mL. Diante dos resultados pode-se observar o valor antifúngico do geraniol contra cepas de *Candida não-albicans* clinicamente relevantes para a pediatria médica.

**PALAVRAS-CHAVE:** Atividade antifúngica. *Candida não-albicans*. Candidemia. Geraniol. Monoterpeno. Pediatria.

## ABSTRACT

In recent decades, there has been an increase in cases of nosocomial infections caused by *Candida* yeasts, with a notable increase in the occurrence of non-*albicans* species, where these species usually present resistance to traditional antifungal agents. In the pediatric population, this fact becomes a major concern due to the high mortality rates. It has already been shown that the monoterpene geraniol has several pharmacological properties, including antifungal activity. In view of these premises, the antifungal activity of geraniol against clinically important strains of *Candida non-albicans* in pediatrics was evaluated. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (CFM) were determined by broth microdilution techniques. The MIC<sub>50</sub> of the phytoconstituent was established as 32 µg/mL, while the CFM<sub>50</sub> for the isolates tested was 64 µg/mL. In view of the results we can observe the antifungal value of geraniol against strains of *Candida non-albicans* clinically relevant to medical pediatrics.

**KEYWORDS:** Antifungal activity. *Candida non-albicans*. Candidemia. Geraniol, Monoterpene. Pediatrics.

## INTRODUÇÃO

As infecções fúngicas estão ocorrendo com maior frequência ao decorrer do tempo. Desse tipo de infecções, as provocadas por *Candida* são as de maior incidência, sendo responsáveis por 80% dos casos de infecções fúngicas sistêmicas (DOI et al., 2016; FU et al., 2017). Em pacientes pediátricos estas infecções podem atingir taxas de mortalidade superiores a 30%, principalmente em indivíduos debilitados com sistema imunológico deprimido e internados a longos períodos (STEINBACH, 2016). Ultimamente têm-se notado uma mudança na incidência dos casos de candidemia, onde a espécie até então mais isolada era *C. albicans*. Porém, as espécies ditas não-*albicans*: *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. pelliculosa*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. glabrata* e *C. pararugosa*; já estão sendo encontradas como os patógenos mais frequentes em diversas regiões do planeta (OLIVEIRA et al., 2014; RUIZ et al., 2013).

Essa mudança traz novos desafios à terapia farmacológica, visto que estas espécies comumente apresentam resistência inata a diversos agentes antifúngicos empregados na rotina clínica, o que dificulta o tratamento destas infecções e geralmente leva a péssimos resultados clínicos (MORACE et al., 2011; XISTO et al., 2017). Além do surgimento destas cepas resistentes, os antifúngicos tradicionais já escassos possuem limitações devido a sua alta toxicidade (KHAN et al., 2012), assinalando a urgência de se obter novas alternativas que possibilitem o controle e tratamento destas infecções graves (SVETAZ et al., 2007).

Um dos compostos majoritários dos óleos essenciais de diversas plantas é o geraniol (DEVAKI, 2015; QUINTANS-JÚNIOR et al., 2008), um monoterpene presente na composição de óleos essenciais de diversas plantas

e amplamente utilizado na indústria de fragrâncias e perfumes devido ao seu aroma agradável. Este fitoconstituente que já demonstrou possuir atividade farmacológica sobre diversos sistemas fisiológicos, além de também ter exibido atividade antimicrobiana (WU et al., 2016; DENG et al., 2015; JAYACHANDRAN et al., 2015).

Diante do exposto, baseado no potencial biológico deste monoterpene, este trabalho buscou avaliar a atividade antifúngica do geraniol, contra cepas de *Candida não-albicans* provenientes de amostras de infecções sanguíneas de pacientes pediátricos.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Substâncias**

O geraniol, 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 microdiluição (ELOFF, 1998). 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 ( $1-5 \times 10^6$  UFC/mL). Em placa de 96 poços foram distribuídos meio líquido de RPMI-1640 e o geraniol em concentrações de 1024 a 0,5  $\mu\text{g/mL}$ . A determinação da CIM foi conduzida com aproximadamente  $1-5 \times 10^5$  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 monoterpeno que inibiu o crescimento visível da levedura (HADACEK & GREGER, 2000; CLSI, 2008). Um controle negativo (sem drogas) foi realizado para confirmar a viabilidade celular fúngica (ELOFF, 1998). 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, 10 $\mu\text{L}$  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 UFC (ESPINEL-INGROFF et al., 2002). Um controle negativo (sem drogas) foi realizado para confirmar a viabilidade celular fúngica (ELOFF, 1998). 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**

### **Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração fungicida mínima (CFM) do geraniol**

Como visto na Tabela 1, a CIM do geraniol variou entre 32 e 128  $\mu\text{g/mL}$ . Foi observado inibição de crescimento fúngico de todas as cepas na concentração 128  $\mu\text{g/mL}$ , enquanto a concentração de 32  $\mu\text{g/mL}$  inibiu mais de 50% das cepas testadas. A CFM variou entre 32 e 256  $\mu\text{g/mL}$ , onde 64  $\mu\text{g/mL}$  foi capaz de inibir o crescimento de 50% das leveduras. A razão entre a CFM/CIM demonstrou natureza fungicida do monoterpeno para todas as cepas testadas, exceto contra *Candida parapsilosis* (AM-05) e *Candida tropicalis* (AM-01) onde apresentou apenas efeito fungistático. A CIM da anfotericina B variou entre 0.5 e 1  $\mu\text{g/mL}$ , enquanto para o fluconazol variou entre 0.5 e 8  $\mu\text{g/mL}$ . Os resultados para o ensaio controle não apresentou inibição do crescimento fúngico.

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

Leveduras	Geraniol (µg/mL)				Anf (µg/mL)	Flc (µg/mL)	Controle <sup>a</sup>
	CIM	CFM	$\frac{CFM}{CIM}$	Efeito	CIM	CIM	
<i>C. tropicalis</i>							
ATCC-13803	32	64	2:1	Fungicida	0.5	0.5	+
AM-01	64	256	4:1	Fungistático	1	1	+
AM-12	32	32	1:1	Fungicida	0.5	0.5	+
<i>C. parapsilosis</i>							
ATCC 22019	32	64	2:1	Fungicida	0.5	0.5	+
AM-05	32	256	8:1	Fungistático	1	1	+
AM-14	128	256	2:1	Fungicida	0.5	4	+
<i>C. pelliculosa</i>							
AM-03	128	256	2:1	Fungicida	1	8	+
AM-11	32	64	2:1	Fungicida	1	8	+

Legenda: CIM, concentração inibitória mínima; CFM, concentração inibitória mínima; Anf, anfotericina B; Flc, fluconazol; <sup>a</sup> crescimento fúngico em RPMI-1640, DMSO (5%) e Tween 80 (2%), sem agente antifúngico.

## DISCUSSÃO

Com escassez terapêutica e elevada toxicidade associada, as infecções sanguíneas provocadas por fungos tem se tornado cada vez mais difíceis de se controlar, exigindo que novas estratégias sejam desenvolvidas para garantir a sobrevivência dos pacientes infectados, sobretudo os pacientes pediátricos (NEGRI et al., 2014).

O uso de produtos naturais com finalidade terapêutica já era explorado pela humanidade desde a antiguidade. Porém, com a crescente necessidade de se encontrar novas moléculas seguras e eficazes no tratamento das fungemias, os produtos naturais passaram a ser exaustivamente pesquisados quanto a suas possíveis atividades biológicas, em especial, ao seu potencial antifúngico (FENNER et al., 2006; FERREIRA et al., 2015; NASCIMENTO JÚNIOR et al., 2016). O monoterpeno alcoólico geraniol pode constituir 20% da composição de alguns óleos essenciais, com importância farmacológica devido a sua gama de atividades como antifúngico e antibacteriano (QUINTANS-JÚNIOR et al., 2008; LEITE et al., 2015)

Os dados da presente pesquisa estão de acordo com aqueles encontrados previamente em estudos conduzidos por nosso grupo de pesquisa ao avaliar a atividade antifúngica deste fitoconstituente contra cepas de *Candida albicans* provenientes de infecções sanguíneas de pacientes pediátricos, onde 90% dos isolados foram inibidos frente a uma CIM e CFM de 64 µg/mL (LIMA

et al. 2017). Esta atividade corrobora com os resultados obtidos em outros estudos, onde o geraniol inibiu cepas de *C. albicans* e não-*albicans* com CIM entre 16-130µg/mL, atestando o geraniol como ótimo agente contra candidíase (TAMPIERI et al., 2005; LEITE et al., 2015; SHARMA, et al., 2016)

A atividade antimicrobiana de uma determinada substância pode ser interpretada de acordo com Sartoratto et al. (2004): forte/boa atividade (CIM: <500 µg/mL) e Morales et al. (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). Sendo assim, o geraniol pode ser caracterizado como uma substância de ótima atividade antifúngica, pois sua CIM contra a maioria das cepas testadas foi inferior a 100 µg/mL.

Rotineiramente utilizados nos casos de candidemia, a anfotericina B e fluconazol possuem ótima eficácia contra os patógenos. Porém, a toxicidade elevada da anfotericina B e os casos emergentes de resistência ao fluconazol têm limitado o uso destas substâncias (TRAGIANNIDIS et al., 2015; JENSEN et al., 2015). De acordo com os resultados obtidos e com os critérios de Morales et al. (2008), 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.

A natureza do efeito antimicrobiano produzido por uma substância contra um micro-organismo específico pode ser classificada de acordo com a razão entre sua CFM e CIM, onde a relação CFM/CIM entre 1/1 e 2/1 indica um produto químico de caráter fungicida, enquanto uma razão CFM/CIM > 2:1 sugere que este produto seja fungistático (HAFIDH et al., 2011).

A razão CFM/CIM do geraniol variou entre 1 e 2, sugerindo que este fitoconstituente exerce efeito fungicida contra as linhagens fúngicas testadas, com exceção de *Candida parapsilosis* (AM-05) e *Candida tropicalis* (AM-01), onde atuou como fungistático. Este resultado está de acordo com outros estudos realizados onde este monoterpene agiu como fungicida contra cepas de *C. albicans* (LEITE et al., 2015). Agentes fungicidas são preferíveis para serem implementados na terapêutica clínica devido a menor chance de favorecer a aquisição de resistência pelos micro-organismos e por conseguirem alcançar algum sucesso terapêutico mesmo em pacientes imunodeprimidos (MONK, 2008).

A atividade antifúngica demonstrada pelo geraniol ressalta a importância de se conduzir sucessivas pesquisas com este fitoconstituente de forma a conhecer todas as características e mecanismo de ação e consequentemente inseri-lo na terapia antifúngica.

## CONCLUSÕES

O geraniol apresentou forte atividade biocida contra as linhagens testadas de *C. não-albicans*, oriundas de infecções da corrente sanguínea em pacientes pediátricos, reforçando a importância deste fitoconstituente como notável substância antifúngica e estimulando sucessivas pesquisas no intuito de viabilizar sua inserção na terapêutica tradicional, partindo de estudos toxicológicos até a elucidação profunda sobre os mecanismos de ação envolvidos.

## REFERÊNCIAS

- CLSI. **Clinical and Laboratory Standards Institute**. Protocol M27-A3. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. 3ed. Wayne, PA, USA. 2008.
- DOI, A. M. et al. Epidemiology and microbiologic characterization of nosocomial candidemia from a Brazilian national surveillance program. **PloS one**, v. 11, n. 1, p. e0146909, 2016.
- ELOFF, J. N. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. **Planta Med**, v. 64, n. 08, p. 711-713, 1998.
- ESPINEL-INGROFF, A. et al. 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**, v. 40, n. 10, p. 3776-3781, 2002.
- FENNER, R. et al. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 3, p. 369-394, 2006.
- FERREIRA, G. L. S. et al. Does scientific evidence for the use of natural products in the treatment of oral candidiasis exist? A systematic review. **Evid Based Complement Alternat Med**, v. 2015, 2015.
- FROST, D. J. et al. A whole-cell *Candida albicans* assay for the detection of inhibitors towards fungal cell wall synthesis and assembly. **J Antibiot**, v. 48, n. 4, p. 306-310, 1995.
- FU, J. et al. Epidemiology of *Candida albicans* and non-*C. albicans* of neonatal candidemia at a tertiary care hospital in western China. **BMC Infect Dis**, v. 17, n. 1, p. 329, 2017.
- HADACEK, F.; GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. **Phytochem Anal**, v. 11, n. 3, p. 137-147, 2000.
- HAFIDH, R. R. et al. Inhibition of growth of highly resistant bacterial and fungal pathogens by a natural product. **Open Microbiol J**, v. 5, p. 96, 2011.
- JAYACHANDRAN, M.; CHANDRASEKARAN, B.; NAMASIVAYAM, N. Geraniol attenuates fibrosis and exerts anti-inflammatory effects on diet induced atherogenesis by NF- $\kappa$ B signaling pathway. **Eur J Pharmacol**, v. 762, p. 102-111, 2015.
- JENSEN, R. H. et al. Stepwise emergence of azole, echinocandin and amphotericin B multidrug resistance in vivo in *Candida albicans* orchestrated by multiple genetic alterations. **J Antimicrob Chemother**, v. 70, n. 9, p. 2551-2555, 2015.

KHAN, M. S. A.; 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**, v. 50, n. 1, p. 33-42, 2012.

LEITE, M. C. A. et al. Investigating the antifungal activity and mechanism (s) of geraniol against *Candida albicans* strains. **Med Mycol**, v. 53, n. 3, p. 275-284, 2014.

LIMA, A. L. et al. Antifungal Activity of Citronellal on *Candida albicans* Isolates of Pediatric Clinical Importance. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 36, n. 10, p. 2042-2047, 2017.

MADAN, K. A.; DEVAKI, T. Geraniol, a component of plant essential oils-a review of its pharmacological activities. **Int J Pharm Pharm Sci**, v. 7, p. 67-70, 2015.

MONK, B. C.; GOFFEAU, A. Outwitting multidrug resistance to antifungals. **Science**, v. 321, n. 5887, p. 367-369, 2008.

MORACE, G. et al. Antifungal susceptibility of invasive yeast isolates in Italy: the GISIA3 study in critically ill patients. **BMC Infect Dis**, v. 11, n. 1, p. 130, 2011.

MORALES, G. et al. Antimicrobial activity of three *Baccharis* species used in the traditional medicine of Northern Chile. **Molecules**, v. 13, n. 4, p. 790-794, 2008.

NASCIMENTO JUNIOR, B. J. et al. Avaliação do conhecimento e percepção dos profissionais da estratégia de saúde da família sobre o uso de plantas medicinais e fitoterapia em Petrolina-PE, Brasil. **Rev bras plantas med**, v. 18, n. 1, p. 57-66, 2016.

NEGRI, M. et al. Early state research on antifungal natural products. **Molecules**, v. 19, n. 3, p. 2925-2956, 2014.

OLIVEIRA, V. K. P. 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 São Paulo**, v. 56, n. 4, p. 301-305, 2014.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J. et al. Phytochemical screening and anticonvulsant activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) leaf essential oil in rodents. **Phytomedicine**, v. 15, n. 8, p. 619-624, 2008.

DA SILVA RUIZ, L. et al. Candidemia by species of the *Candida parapsilosis* complex in children's hospital: prevalence, biofilm production and antifungal susceptibility. **Mycopathologia**, v. 175, n. 3-4, p. 231-239, 2013.

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

SHARMA, Y.; KHAN, L. A.; MANZOOR, N. Anti-Candida activity of geraniol involves disruption of cell membrane integrity and function. **J Mycol Med**, v. 26, n. 3, p. 244-254, 2016.

STEINBACH, W. J. Pediatric invasive candidiasis: Epidemiology and diagnosis in children. **J Fungi**, v. 2, n. 1, p. 5, 2016.

SVETAZ, L. et al. Antifungal activity of *Zuccagnia punctata* Cav.: evidence for the mechanism of action. **Planta Med**, v. 73, n. 10, p. 1074-1080, 2007.

TAMPIERI, M. P. et al. The inhibition of *Candida albicans* by selected essential oils and their major components. **Mycopathologia**, v. 159, n. 3, p. 339-345, 2005.

TRAGIANNIDIS, A.; TSOULAS, C.; GROLL, A. H. Invasive candidiasis and candidaemia in neonates and children: update on current guidelines. **Mycoses**, v. 58, n. 1, p. 10-21, 2015.

WU, Y.; OUYANG, Q.; TAO, N. Plasma membrane damage contributes to antifungal activity of citronellal against *Penicillium digitatum*. **J Food Sci Technol**, v. 53, n. 10, p. 3853-3858, 2016.

XISTO, M. I. et al. Pan-azole-resistant *Candida tropicalis* carrying homozygous erg11 mutations at position K143R: a new emerging superbug?. **J Antimicrob Chemother**, v. 72, n. 4, p. 988-992, 2017.