

## Avaliação da ação do extrato *in natura* de *Rosmarinus officinalis* em cepas de *Candida* spp

### Evaluation of the activity of *in natura* extract of *Rosmarinus officinalis* in *Candida* spp strains

Regina Rigo Thiel <sup>1</sup>, Alexandre Ehrhardt <sup>2</sup>

A *Candida* spp. possui elevada patogenicidade nos seres humanos imunocomprometidos, acometendo órgãos genitais, mucosa do trato respiratório e oral, entre outras partes do corpo, tornando-se cada vez mais resistente aos antifúngicos. Uma das opções para seu tratamento está relacionado ao uso de plantas medicinais as quais possuem ação antibacteriana e antifúngica. O presente estudo buscou avaliar a atividade antifúngica dos extratos *in natura* do *Rosmarinus officinalis* frente as cinco cepas de *Candida* spp. por meio de uma pesquisa experimental na qual foram testados dois extratos diferentes do alecrim *in natura*, sendo um do caule e outro das folhas da planta, frente as cepas de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. glabrata*. O alecrim apresentou atividade inibitória frente as cepas com variações de inibição relacionadas à diferentes concentrações, com inibição de crescimento em todas as concentrações dos extratos testados contra *C. albicans* e *C. tropicalis*. As cepas de *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. glabrata* testadas demonstraram resultados distintos entre si relacionados a inibição do crescimento conforme as diluições propostas. Considerando o apresentado, é possível considerar que o *R. officinalis in natura* apresenta atividade inibitória frente a *Candida albicans* e *Candidas* não-albicans

**Palavras-chave:** Psoríase. Novas Terapêuticas. Tratamento.

The *Candida* spp. has great pathogenicity in immunocompromised human beings affecting genital organs, mucosa of respiratory and oral tract, among other parts of the body; becoming increasingly more resistant to antifungal drugs and one of the options for treatment is related to the use of medicinal herbs, which have antibacterial and antifungal action. This study aimed to evaluate the antifungal activity of *in natura* extracts of *Rosmarinus officinalis* against five *Candida* spp. strains by experimental research in which were tested two different Rosemary extracts, being one made of the stem and the other of the leaves of the plant, against strains of *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* and *C. glabrata*. The rosemary presented inhibitory activity against strains with variation of inhibition related to different concentrations, with growth inhibition in all concentrations of the extracts tested against *C. albicans* and *C. tropicalis*. The *C. krusei*, *C. parapsilosis* and *C. glabrata* strains tested showed distinct results among themselves related to the growth inhibition and dilution proposed. Considering the results, it is possible to consider that *R. officinalis in natura* shows a relevant inhibitory activity against *C. albicans* and non-albicans *Candidas*.

**Keywords:** Mycology. Phytotherapeutic Drugs. Plant Extracts. *Rosmarinus*. *Candida*.

**Autor Correspondente:** Regina Rigo Thiel

**Endereço:** Rua Amazonas n° 1959, Vila Birigui, Rondonópolis, Mato Grosso, Brasil. CEP: 78705-012

**E-mail:** [reginathiel@hotmail.com](mailto:reginathiel@hotmail.com)

**Declaração de Interesses:** Os autores certificam que não possuem implicação comercial ou associativa que represente conflito de interesses em relação ao manuscrito.

<sup>1</sup> Graduada em Biomedicina pela Universidade Luterana do Brasil, campus Carazinho/RS.

<sup>2</sup> Docente do curso de Biomedicina da Universidade Luterana do Brasil-Campus Carazinho/RS.

## INTRODUÇÃO

Desde os primórdios até os dias atuais, nota-se um aumento no uso de plantas medicinais como forma de tratamento de doenças devido às crenças empregadas nessa área (1). No Brasil, o uso das plantas para esses fins foi empregado pelos índios na época da colonização com a contribuição dos europeus para fins de tratamentos e cuidado aos feridos (2).

Para uma planta ser medicinal ela precisa ter propriedades ativas que despertam respostas no organismo, levando ao alívio e até mesmo à cura da doença (3-4). Essas possuem menor probabilidade de causar efeitos colaterais em seus usuários, porém, antes da ingestão precisa ser avaliado todas suas informações como princípios ativos, dose tóxica ao ser humano, origem da planta quando usada para chás, as quais são oriundas do solo, e ainda os óleos essenciais, os quais devem ser puros e feitos em laboratórios especializados (5).

A fitoterapia baseia-se na utilização das folhas, raízes, caules e até flores de plantas, dos quais são obtidas substâncias ativas para uso nas formas de chás, remédios e óleos essenciais (2,5). É usada em diversos setores da área da saúde no Brasil, como na área odontológica como antifúngica e antibacteriana (5-11).

Dentre as mais variadas plantas medicinais conhecidas pela população, dispomos do *Rosmarinus officinalis* conhecido popularmente como alecrim, o qual desempenha atividade antioxidante, antimicrobiana, e ainda, antifúngica (12).

O alecrim é da família Lamiaceae. Sendo um arbusto perene, é uma planta sempiterno e odorífero originado por suas folhas verdes que podem medir até 4 cm de comprimento e são as responsáveis por liberar seu aroma peculiar; possui pequenas flores em formato bilabiada de diversas cores, como azul ou roxas, e a planta pode medir até 1,5 m de altura (3,13).

A planta é constituída quimicamente de terpenóides, que são substâncias naturais desnaturadas por oxidação, sendo muito usado em cosméticos, conservação de alimentos entre outras aplicações. A erva encontrada em solo é disposta de terpenos fenólicos: carnosol, ácido carnósico e ácido rosmarínico, estes contêm ações antifúngicas e antibacterianas (14-17).

Dentre as principais doenças emergentes, estão as infecções por fungos leveduriformes, especialmente pelas espécies de *Candida* spp., sendo o agente etiológico mais frequentemente isolado em infecções oportunistas aos seres humanos (18). Os fungos da espécie *Candida* spp. são encontrados em uma variedade de locais, como solo, alimentos, água e em diversos sítios biológicos de humanos podendo habitar o sistema urogenital, trato gastrointestinal, mucosa do trato respiratório e pele, entre outras partes do corpo; e é considerado o principal grupo de patógenos oportunistas (1).

Em relação aos fungos mais prevalentes em estudos e na prática médica, também conhecida como o mais comum das candidíases e isolada em diversos sítios do corpo humano está a *C. albicans*, que por ter aderência a diferentes mucosas e epitélios é o principal agente causador das candidíases cutâneas e orais (19-20). Outros gêneros acometem pacientes imunocomprometidos e hospitalizados com doenças hematológicas (candidemias) como a *C. krusei* e a *C. tropicalis* (18,20-21).

Seguindo, a *C. glabrata* é um agente agressivo e oportunista de grande incidência hospitalar, chegando a ser o segundo ou terceiro mais encontrado nesses ambientes (20,22). A *C. parapsilosis* também está presente em ambiente hospitalar; causa dano por ser transmitida por objetos contaminados como

dispositivos médicos, cateter vascular e mãos de profissionais da saúde, e está frequentemente presente na pele humana e acomete principalmente crianças ou recém-nascidos internados em UTI (23-24)

Com base nessas informações, o presente artigo analisou a resposta da atividade antifúngica do extrato *in natura* da planta *R. officinalis* frente as 5 diferentes cepas: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. glabrata*.

## METODOLOGIA

O presente artigo teve sua metodologia baseada em uma pesquisa experimental realizada no Laboratório Escola da Biomedicina – Ulbra campus Carazinho-RS, no período de setembro a outubro do ano de 2019, sendo as técnicas de extração e processos adaptadas das metodologias descritas por Guimarães et al. (25), Orling e Ehrhardt (26) e Cruz e Ehrhardt (27).

### Cepas fúngica

As cepas do gêneros *Candida*: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*, foram adquiridas da Micoteca do Curso de Biomedicina – Ulbra, campus Carazinho-RS, sendo que teve sua identificação fenotípica prévia pelo sistema automatizado Vitek® 2 (bioMérieux, Marcy – l' Etoile, France). As cepas não apresentaram perfil de resistência frente aos antifúngicos habituais: Cetoconazol, Fluconazol e Itraconazol. As cepas foram repicadas em meio de cultura HiCrome *Candida* Agar (Himedia Laboratories) e incubadas em estufa microbiológica a temperatura de 35 °C ( $\pm 2$  °C) por 48h. Decorrido o tempo de incubação, verificou-se o crescimento fúngico das diferentes espécies, as quais foram identificadas conforme bula do fabricante por pigmentação de cada um dos fungos. Por fim, foi realizado a preparação do inóculo fúngico que seguiu a os padrões da Escala 0,5 MacFarland conforme o protocolo M27-A3 do *National Committee for Clinical Laboratory Standard* (28).

### Preparação do extrato

Para obter os extratos do presente estudo foram colhidas 200g de caule e folhas de *R. officinalis*, de uma propriedade urbana do município de Sarandi/RS.

No laboratório foi realizado a lavagem do alecrim com água deionizada, tanto as folhas como o caule, pois ambos foram utilizados para o extrato aquoso, após secagem total foram armazenados. Para a obtenção do extrato aquoso das folhas inteiras e do caule foi utilizado cinco gramas de cada amostra e adicionado a 50 mL de água a qual foi fervido por 30 minutos. Após foi filtrada a decocção e armazenada em recipiente âmbar e vedado para posterior uso.

Por fim, foi realizada a preparação das diferentes concentrações dos extratos *in natura*, tanto da folha como do caule do alecrim nas concentrações 1/2, 1/4 e 1/8, sendo usado dimetilsulfóxido (DMSO) como solvente.

### Execução do teste da avaliação antifúngica

As cepas selecionadas para a pesquisa foram incubadas adicionando 100µl de inóculo com 100µl de caldo Brain Heart Infusion (BHI) por 24 horas em estufa a temperatura de 35 °C ( $\pm 2$  °C).

O teste foi realizado em três placas de cultivo celular (Nest), onde em cada poço foi adicionado 1,8mL de cada concentração específica dos extratos mais 200 µl da combinação do inóculo e BHI, realizando

a homogeneização com uma micropipeta calibrada. As placas foram incubadas em estufa por 24h em temperatura de 35 °C ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ).

Dando seguimento, após o período completo do tempo as placas foram abertas e manuseadas dentro da capela de fluxo laminar. Para realizar o processo final foi utilizada uma alça calibrada de 10 $\mu\text{l}$  para semear cada um dos poços em placas de ágar *Sabouraud*, as quais foram adicionadas na estufa por um período de 24h e 48h a 35 °C ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ).

Para o controle positivo de crescimento foi utilizado uma placa de ágar *Sabouraud*, na qual foi semeado o inóculo de cada um dos fungos com DMSO, assim, avaliou-se visualmente o crescimento ou inexistência da atividade antifúngica de cada placa, conforme concentração e extrato utilizado. Já para o controle de inibição de crescimento (negativo) foram utilizados os antifúngicos Cetoconazol, Fluconazol e Itraconazol, sendo que os mesmos foram semeados da mesma forma que os extratos, passaram pela técnica de enriquecimento dos fungos e após as 24h pela etapa das placas adicionando-se 1,8 mL de cada um dos antifúngicos e 200  $\mu\text{l}$  do inóculo já preparado. As concentrações dos antifúngicos foram realizadas por diluição com DMSO conforme o protocolo M27-A3 do *National Committee for Clinical Laboratory Standard* (28).

As placas foram avaliadas em 24h, as quais não obtiveram resultados, e novamente em 48h após a incubação em estufa. Assim, avaliou-se o crescimento ou inexistência da atividade fúngica de cada placa, conforme concentração e extrato utilizado.

## RESULTADOS

As placas avaliadas no primeiro teste referem-se à avaliação da ação das diferentes concentrações do extrato aquoso da folha do *R. officinalis* contra as cepas de *Candida* spp. A concentração 1:2 inibiu todas as cepas testadas, já nas outras duas concentrações 1:4 e 1:8 apresentaram crescimentos de duas cepas diferentes, conforme Tabela 1.

Tabela 1 - Ação do extrato in natura da folha do *R. officinalis* em suas diferentes concentrações frente as cepas de *Candidas* utilizadas no estudo

Cepas	1:2	1:4	1:8
<i>C. albicans</i>	-	-	-
<i>C. glabrata</i>	-	-	+++
<i>C. krusei</i>	-	+++	+++
<i>C. parapsilosis</i>	-	-	-
<i>C. tropicalis</i>	-	-	-

Legenda: - ausência de crescimento, + crescimento 10-20 colônias, ++ crescimento > 20 colônias, +++ crescimento maciço na placa.

Foi realizada análise da ação das diferentes concentrações do extrato aquoso do caule do *R. officinalis* contra as diferentes cepas, sendo que a concentração 1:2 também inibiu 100% de crescimento, e nas outras duas concentrações 1:4 e 1:8 apresentaram crescimento de duas cepas diferentes, conforme Tabela 2.

Tabela 2 - Ação do extrato in natura do caule do *R. officinalis* em suas diferentes concentrações frente as cepas de *Candida* utilizadas no estudo

Cepas	1:2	1:4	1:8
<b><i>C. albicans</i></b>	-	-	-
<b><i>C. glabrata</i></b>	-	-	+++
<b><i>C. krusei</i></b>	-	-	-
<b><i>C. parapsilosis</i></b>	-	++	+++
<b><i>C. tropicalis</i></b>	-	-	-

Legenda: - ausência de crescimento, + crescimento 10-20 colônias, ++ crescimento > 20 colônias, +++ crescimento maciço na placa.

A avaliação do efeito dos antifúngicos utilizados no estudo foi demonstrada pelo uso de Cetoconazol (64 µg/mL), Fluconazol (16 µg/mL) e Itraconazol (16 µg/mL) para fins de validação do teste, onde as cepas de *Candida* spp. foram inibidas nos três antifúngicos testados, conforme Tabela 3.

Tabela 3 - Ação dos antifúngicos frente as diferentes cepas de *Candida*

Cepas	Cetoconazol	Fluconazol	Itraconazol
<b><i>C. albicans</i></b>	-	-	-
<b><i>C. glabrata</i></b>	-	-	-
<b><i>C. krusei</i></b>	-	-	-
<b><i>C. parapsilosis</i></b>	-	-	-
<b><i>C. tropicalis</i></b>	-	-	-

Legenda: - ausência de crescimento, + crescimento 10-20 colônias, ++ crescimento > 20 colônias, +++ crescimento maciço na placa.

## DISCUSSÃO

Os extratos utilizados frente às diferentes cepas de *Candida* spp., apresentaram resultados parcialmente satisfatórios considerando que algumas concentrações não obtiveram efetividade sobre a inibição do crescimento das cepas do estudo. Analisando de um modo geral foi possível observar que os extratos de *R. officinalis* exibiram maior padrão de inibição frente as cepas de *C. albicans* e *C. tropicalis* independente da concentração testada. Avaliando a *C. glabrata*, os extratos demonstraram bons resultados, uma vez que foi observado crescimento apenas na sua maior diluição. Ainda, os extratos propostos quando confrontados contra as cepas de *C. parapsilosis* e *C. krusei* obtiveram resultados razoáveis, tendo inibido o crescimento apenas na primeira diluição.

Os problemas de saúde estão cada dia mais recorrentes em nosso âmbito, sendo assim, a preocupação também aumenta drasticamente e o uso de medicamento sem prescrição médica também. Grande parte da população faz uso da automedicação, fazendo com que as bactérias e fungos criem resistência aos antibióticos que antes eram usados apenas em caso de emergência (29).

Infecções fúngicas apresentam elevada incidência, seja na cavidade oral, órgãos sexuais ou até mesmo em infecções generalizadas de difícil tratamento, com algumas cepas apresentando resistência frente os antifúngicos comerciais. Sendo assim, produtos de origem natural são muito procurados e recomendados para uso pela população visto terem presente em sua composição substâncias com efeitos antifúngicos e antibacteriano (30).

Analisando os resultados obtidos, nota-se que a *C. albicans* e *C. tropicalis* não apresentaram crescimento em nenhuma das concentrações testadas nos dois extratos diferentes. Cavalcanti et al. (31) e Matsuzaki et al. (32) em pesquisas sobre a atividade de óleos essenciais de *R. officinalis* frente cepas ATCC de *C. tropicalis* e *C. albicans*, confirmaram a ação inibitória do óleo por metodologia de disco difusão sendo testadas discos embebidos com 100 µl das emulsões e avaliado o diâmetro dos halos após 24h de estufa.

Resultados semelhantes também foram descritos por Castro e Lima (7), quando testada a ação do óleo essencial de *R. officinalis* frente cepas ATCC de *C. tropicalis* e *C. albicans*, seguindo a metodologia por disco difusão utilizando 100 µl das emulsões e os resultados foram avaliados após 48h, no qual a *C. albicans* teve sua inibição observada.

Conforme os resultados, a *C. parapsilosis* teve seu crescimento presente no extrato do caule nas diluições 1:4 e 1:8 e a *C. krusei* nas placas da folha nas mesmas concentrações. Contrapondo os resultados achados, Gauch et al. (24) alcançaram desfechos antagônicos no qual após avaliar a atividade antifúngica do óleo essencial frente as cepas ATCC de *C. parapsilosis* e *C. krusei* por técnica de MIC constataram a sensibilidade das cepas frente ao óleo testado.

A *C. glabrata* apresentou crescimento em ambas as infusões apenas na última diluição testada, notando-se que quanto menor a concentração do composto bioativo, menor seu resultado de inibição. Costa et al. (30), analisaram o efeito do óleo essencial contra cepas de *C. glabrata* isoladas da cavidade bucal de pacientes odontológicos também por técnica de MIC em disco difusão, não demonstrando efeito inibitório nas condições do estudo.

Embora não haja disponível um acervo sobre o uso do extrato aquoso do *R. officinalis* frente as diferentes cepas de *Candida* spp., há uma grande variedade sobre o uso do óleo essencial da planta com grandes resultados favoráveis. Ainda, nota-se grande diversidade de metodologias utilizadas em ensaios sobre a ação antifúngica, sendo que os mais usados são disco difusão e orifícios em ágar (33).

Considerando que a fitoterapia está presente desde muitos anos na nossa rotina, e para os mais variados benefícios, nota-se bem evidenciados na literatura científica os relatos do uso de plantas medicinais pela população, indicando que quase a totalidade dos indivíduos alguma vez durante a vida já fizeram uso de um tipo de princípio ativo fitoterápico, sendo que as plantas apresentam propriedades terapêuticas distintas na qual o alecrim traz notáveis efeitos em relação ao seu uso (34).

Diversos estudos já foram realizados com o intuito de testar o extrato aquoso e óleo essencial do *R. officinalis* contra cepas de *Candida* spp., assim como de bactérias patógenas conhecidas, como *E. coli* e *S. aureus*. Guimaraes et al. (25) realizaram um ensaio experimental com o objetivo de testar o efeito do óleo essencial e do extrato aquoso de *R. officinalis* contra cepas ATCC de *E. coli* e *S. aureus*, os quais demonstraram atividade inibitória. Esse resultado foi obtido por meio da metodologia de orifício em Ágar Mueller Hinton, com 60 µl do extrato e do óleo e incubadas por 24h e resultados verificados por meio da leitura dos diâmetros dos halos.

Fenner et al. (35) avaliando as plantas medicinais utilizadas pela população brasileira que possuem atividade antifúngica comprovada, relataram ao todo 409 espécies de vegetais utilizadas, dentre essas o *R. officinalis* com resultados positivos no tratamento de sinais e sintomas correlacionados com as infecções fúngicas.

Os componentes não voláteis são substâncias sólidas, como por exemplo as folhas e caule do alecrim como seu extrato bruto. O diterpenos fenólico são metabólicos secundários da classe dos terpenóides. Em sua base, possuem três componentes os quais são encontrados na composição do alecrim e que possuem ações antioxidantes e antimicrobiana: carnosol, ácido carnósico, ácido rosmarínico, esses componentes são os mais conhecidos que disponibilizam efeitos farmacológicos da planta, podendo ainda ter bastante ação contra bactérias e fungos (3,9,36-37).

Os três componentes são encontrados principalmente na folha do alecrim quando ainda pura em sua essência, sem misturas, por isso um componente não volátil (38).

O ácido rosmarínico é um polifenol derivado do ácido caféico e do ácido 3,4-dihidroxifenilacético, é identificado em várias plantas no Brasil; foi isolado por Scarpati e Oriente em 1958 pela primeira vez na história, oriundo das folhas do *R. officinalis* (39).

De todos os estudos realizados, ainda nenhum foi destinado para descobrir qual dos componentes presentes no alecrim *in natura* tem maior ação antifúngica, porém suas combinações acabam tendo grande efeito positivo.

É de conhecimento geral que apenas as folhas do alecrim são utilizadas para fins de culinária, infusão e dentre outras utilidades, antigamente o caule era queimado e usado para aromatizar o ambiente visto liberar substâncias muito úteis para a saúde, as quais estão dispostas nas folhas. Por esse motivo, no presente estudo foi usado também o caule para testar sua inibição.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando a inibição das cepas de *Candida* spp. frente aos antifúngicos comerciais testados no presente estudo, nota-se que o uso *R. officinalis in natura*, apresenta resultados de grande relevância no campo da saúde redirecionando seu uso ao tratamento de infecções antifúngicas.

Entretanto, como já mencionado, ainda não foram feitos estudos para saber qual dos componentes do alecrim é o que possui mais ação antifúngicas, sendo assim, necessita-se mais estudos nessa área para fins de utilizar a planta em maior escala.

## REFERÊNCIAS

- (01) ASSAF, A. M. et al. Antimicrobial and anti-inflammatory potential therapy for opportunistic microorganisms. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 10, n. 5, p. 494–505, 2016.
- (2) REZENDE, H. A.; COCCO, M. I. M.; A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Revista da Escola de Enfermagem USP**. v. 36, n. 3, p. 282–288, 2002.
- (3) OLIVEIRA, J. R.; CAMARGO, S. E. A.; DE OLIVEIRA, L. D. *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. **Journal of Biomedical Science**, v. 26, n. 5, p. 1–22, 2019.
- (4) SILVA, M. T. N. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas frente a linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 3, p. 257–262, 2009.
- (5) FRANCISCO, K. M. S. Fitoterapia: Uma Opção Para O Tratamento Odontológico. **Revista Saúde**, v. 4, n. 1, p. 18–24, 2010.
- (6) GOUVEIA, C. L. et al. Antifungal activity of components used for decontamination of dental prostheses on the growth of *Candida albicans*. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 43, n. 2, p. 137–143, 2014.
- (7) CASTRO, R. D.; LIMA, E. O. Atividade antifúngica dos óleos essenciais de sassafrás (*Ocotea odorifera* Vell.) e alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) sobre o gênero *Candida*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 2, p. 203–208, 2011.
- (8) SANTIN, R. et al. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Origanum vulgare* frente a *Malassezia pachydermatis*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 2, p. 367–373, 2014.
- (9) AMARAL, G. P. et al. Antibacterial and antioxidant effects of *Rosmarinus officinalis* L. extract and its fractions. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 9, n. 4, p. 383–392, 2019.
- (10) BOZIN, B. et al. Antibacterial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L.) essential oils. **Journal of Agricultural and food Chemistry**, v. 55, n. 19, p. 7879–7885, 2007.
- (11) PROBST, I. D. S. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação de potencial sinérgico**. 2012. 112f. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.
- (12) SANTOYO, S. et al. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil Obtained via Supercritical Fluid Extraction. **Journal of Food Protection**, v. 68, n. 4, p. 790–795, 2005.
- (13) ROSSATO, A. E. et al. **Fitoterapia racional: aspectos taxonômicos, agroecológicos, etnobotânicos e terapêuticos**. DIOESC, 2012. Ed. 1, p.211.
- (14) BARRETO, H. M. et al. Chemical composition and possible use as adjuvant of the antibiotic therapy of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. **Industrial Crops and Products**, v. 59, n. 1, p. 290–294, 2014.
- (15) ÉVORA, L. N. P. **Atividades biológicas e citotoxicidade do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L.** 2015. 94f. Dissertação (Mestrado em Segurança Alimentar), Universidade de Coimbra. 2015.

- (16) GOMES, F. **Estudo dos compostos voláteis do alecrim utilizando as técnicas de microextração em fase sólida (SPME), hidrodestilação e extração com fluidos supercríticos (SFE)**. 2003. 77f. Dissertação (Mestrado em Química) -Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.
- (17) LEE, L. T. et al. Potencial fungitóxico do óleo essencial de alecrim no controle de *Aspergillus flavus*. **In: XIII Congresso Nacional de Meio Ambiente de Poços de Caldas**. 2016. p. 1-8.
- (18) VIEIRA, A. J. H.; SANTOS, J. I. Mecanismos de resistência de *Candida albicans* aos antifúngicos anfotericina B, fluconazol e caspofungina. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 49, n. 3, p. 235–239, 2017.
- (19) CROCCO, E. I. et al. Identificação de espécies de *Candida* e susceptibilidade antifúngica in vitro: Estudo de 100 pacientes com candidíases superficiais. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 79, n. 6, p. 689–697, 2004.
- (20) BARBEDO, L. S.; SGARBI, D. Candidíase. **DST - Jornal Bras. de Doenças Sex. Transmissíveis**. v. 22, n. 1, p. 22–38, 2010.
- (21) MENEZES, E. A.; MENDES, L.; CUNHA, F. A. Resistência a antifúngicos de *Candida tropicalis* isoladas no Estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 3, p. 354–355, 2009.
- (22) ALVES, I. A.; **Avaliação da suscetibilidade de *Candida glabrata* resistentes ao fluconazol frente a combinações de antifúngicos**. 2011. 82f Dissertação. (Mestre em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Santa Maria. 2011.
- (23) GAUCH, L. M. R. et al. Antifungal activity of *Rosmarinus officinalis* Linn. essential oil against *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida parapsilosis* and *Candida krusei*. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 5, n. 1, p. 61–66, 2014.
- (24) MIMICA, L. M. J. et al. Diagnóstico de infecção por *Candida*: avaliação de testes de identificação de espécies e caracterização do perfil de suscetibilidade. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 45, n. 1, p. 17-23, 2009.
- (25) GUIMARÃES, C. C., et al. Atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato aquoso e do óleo essencial do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia col*. **Revista Brasileira de Biociência**, v. 15, n.2, p. 83-89, 2017.
- (26) ORLING, R.; EHRHARDT, A. **Análise da atividade antifúngica do óleo essencial e de extratos hidroalcoólico de *Illex paraguariensis* em cepas de *Candida* spp.** 2018, 21f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Universidade Luterana do Brasil, Carazinho, 2018.
- (27) CRUZ, L. C.; EHRHARDT, A. Atividade antifúngica do resveratrol em cepas de *Candida* spp. **Revista Sustinere**, Rio de Janeiro, v7, n1, p. 153-167, 2019.
- (28) NCCLS. **Método de Referências para Testes de Diluição em Caldo para Determinação da Sensibilidade de Leveduras à Terapia Antifúngica**; Norma Aprovada – Segunda Edição. Norma M27-A3, Pennsylvania, EUA, 2008.
- (29) GUEDES, R. C. M. et al. Atividade antimicrobiana de Extratos brutos de *Petiveria alliacea* L. **Latin American Journal of Pharmacy**. v. 28, n 4, p. 520-524, 2009.

(30) COSTA et al. Atividade antifúngica dos extratos glicólicos de *Rosmarinus officinalis* Linn. e *Syzygium cumini* Linn. sobre cepas clínicas de *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Candida tropicalis*. **Revista de Odontologia da UNESP**. v. 38, n 2, p. 111-116. 2009.

(31) CAVALCANTI, Y. W. et al. Atividade Antifúngica de Três Óleos Essenciais Sobre Cepas de *Candida*. **Rev. Odontológica do Brasil Central**, v. 20, n 52, p. 68-79, 2011.

(32) MATSUZAKI, Y. et al. Antifungal activity of chemotype essential oils from rosemary against *Candida albicans*. **Journal of Stomatology**, v. 3, n. 1, p. 176-182. 2013.

(33) NASCIMENTO et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 17, n 1, p. 108-113, 2007.

(34) TOMAZZONI, M. I. et al.: Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto e Contexto Enfermagem**, v. 15, n. 1, p. 115-121, 2006.

(35) 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.

(36) ERKAN, N.; AYRANCI, G.; AYRANCI, E. Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. **Food Chemistry**, v. 110, n. 1, p. 76–82, 2008.

(37) TRONCOSO, N. et al. Fast high performance liquid chromatography and ultraviolet-visible quantification of principal phenolic antioxidants in fresh rosemary. **Journal of Chromatography A**, v. 1100, n. 1, p. 20–25, 2005.

(38) CHEUNG, S.; TAI, J. Anti-proliferative and antioxidant properties of rosemary *Rosmarinus officinalis*. **Oncology Reports**, v. 17, p. 1525–1531, 2007.

(39) SANTOS, U. **Avaliação do potencial antinociceptivo e anti-inflamatório do ácido rosmarínico**. 2013. 110f. Tese (Doutorado em Neurociência). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2013.

Recebido: 09 de dezembro de 2019

Aprovado: 09 de julho de 2021



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.