



DOI: 10.14295/cad.cult.cienc.v18i2.2139

EFEITO ANTIFÚNGICO DO ÁCIDO CAFEICO ISOLADO E COMBINADO CONTRA LEVEDURAS DO GÊNERO *Candida* spp.

Luciano Temóteo dos Santos¹; Joara Nályda Pereira Carneiro^{2*}; Antonia Thassya Lucas dos Santos¹;
Rafael Pereira da Cruz¹; Antonio Júdson Targino Machado¹; José Weverton Almeida Bezerra¹;
Thiago Sampaio de Freitas²; Henrique Douglas Melo Coutinho³; Maria Flaviana Bezerra Morais-Braga³

Resumo: Fungos do gênero *Candida* fazem parte da microbiota natural do ser humano, mas podem produzir infecções quando há alterações no sistema imunológico do hospedeiro. Ultimamente tem sido observado o aumento da resistência desses micro-organismos aos medicamentos. Em vista disso, pesquisas na busca por novos agentes terapêuticos, inclusive produtos naturais de origem vegetal, são realizadas visando a obtenção de compostos bioativos. O presente trabalho objetivou avaliar a ação do ácido cafeico isolado e associado com o fluconazol sobre cepas padrões de *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei*. Foram realizados testes por microdiluição para verificação do efeito intrínseco e combinado. Os dados obtidos na leitura espectrofotométrica compuseram a curva de viabilidade celular e a IC₅₀ das células foi calculada. Por subcultivo em meio sólido, foi determinada a Concentração Fungicida Mínima. O ácido cafeico apresentou efeito fungistático nas maiores concentrações testadas, a partir de 4.096 µg/mL. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) do ácido cafeico foi de 8.192 µg/mL para todas as cepas, e a do fluconazol foi de 2.048 µg/mL para *C. albicans*, 512 µg/mL para *C. tropicalis* e 8.192 para *C. krusei*. A modulação mostrou que o produto isolado como também associado ao fluconazol obteve efeitos semelhantes em que ambos reduziram as leveduras em concentrações elevadas. Em associação com o fluconazol, o ácido cafeico apresentou antagonismo frente a todas as linhagens, interferindo negativamente no efeito da droga. Diante dos fatos, destaca-se efeito *in vitro* clinicamente irrelevante na atividade intrínseca para uso sistêmico e desaconselha-se sua associação ao fluconazol em terapias combinadas.

Palavras-chave: Composto fenólico. Efeito fungistático. Fungos oportunistas. Resistência microbiana.

ANTIFUNGAL EFFECT OF CAFEIC ACID ISOLATED AND COMBINED AGAINST YEAST OF GENUS *Candida* spp.

Abstract: Fungi of the genus *Candida* are part of the human's natural microbiota but can produce infections when there are changes in the host's immune system. Lately it has been observed increased resistance to these microorganisms to medications. Therefore, research in the search for new therapeutic agents, including natural products of vegetal origin, are carried out in order to obtain bioactive compounds. The present work aimed to evaluate the action of caffeic acid isolated and associated with fluconazole on standard strains of *Candida albicans*, *Candida tropicalis* and *Candida krusei*. Tests were carried out by microdilution to check intrinsic and combined effect. The data obtained in the spectrophotometric reading comprised the cell viability curve and the IC₅₀ of the cells was calculated. For subculture in solid medium was determined Minimum

1. Egresso curso Ciências Biológicas, Universidade Regional do Cariri, Crato – CE, Brasil.

2. Egresso Programa de Mestrado em Bioprospecção Molecular, Universidade Regional do Cariri, Crato - CE, Brasil.

3. Docente curso de Biologia da Universidade Regional do Cariri, Crato - CE, Brasil.

*Autor correspondente: nalyda_05@hotmail.com

fungicidal concentration. The caffeic acid showed fungistatic effect at the highest concentrations tested, from 4,096 $\mu\text{g/mL}$. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of caffeic acid was 8,192 $\mu\text{g/mL}$ for all strains, and fluconazole was 2,048 $\mu\text{g/mL}$ for *C. albicans*, 512 $\mu\text{g/mL}$ for *C. tropicalis* and 8,192 for *C. krusei*. The modulation showed that the isolated product as well as fluconazole associated had similar effects in that both reduced the yeasts in high concentrations. In association with fluconazole, caffeic acid presented antagonism to all strains, negatively interfering with the effect of the drug. In front of facts, highlight the effect *in vitro* clinically irrelevant in the intrinsic activity for systemic use and it does not recommend its association to fluconazole in combination therapies.

Keywords: Phenolic compound. Fungistatic effect. Opportunistic fungi. Microbial resistance.

Introdução

Nas últimas décadas, as infecções fúngicas aumentaram consideravelmente e passaram a ter relevante atenção por se tornarem constantes, aumentando as taxas de morbidade e mortalidade (NUNES et al., 2011). Apesar de serem comensais e encontrados na microbiota de indivíduos saudáveis, as leveduras do gênero *Candida*, têm se mostrado cada vez mais patogênicas, com capacidade para causarem infecções sistêmicas superficiais e graves (ALVES et al., 2014), isto devido a fatores como baixa imunidade e a diminuição da competitividade na biota de organismos humanos (SHANKAR et al., 2015).

No contexto atual, as infecções por *Candida* têm se sobressaído em relação à outras patologias, devido principalmente, ao aumento de pessoas imunocomprometidas (KADOSH; LOPEZ-RIBOT, 2013). O aumento da resistência a antifúngicos lança o desafio para o desenvolvimento de estratégias e identificação de novas substâncias que possuam atividade antibiótica evitando a disseminação de fungos ou modulando o efeito de produtos usados no combate a candidíase (MENEZES; MENDES; CUNHA, 2009; BRITO et al., 2015). Assim, o aperfeiçoamento e desenvolvimento de novas terapias antifúngicas se faz necessário, visto que as infecções causadas por fungos do gênero *Candida* são relevantes na causa de morbidade e mortalidade em pacientes imunocomprometidos (ARENDRUP; PATTERSON, 2017).

Compostos terapêuticos provenientes de extratos ou óleos essenciais de plantas são o foco de pesquisas com objetivos de reformulação de novos medicamentos já que estes agentes têm ação inibitória contra crescimento fúngico (KOROSEC et al., 2014). Dentre muitos compostos bioativos estudados, estão os compostos fenólicos como o ácido cafeico, derivado dos ácidos cinâmicos, abundantes no reino vegetal (NARDINI et al., 1998) e representa uma grande parte dos polifenóis encontrados nos alimentos naturais (GARAMBONE; ROSA, 2007). Muitos

estudos têm sido realizados a fim de aperfeiçoar os métodos de preparação dos derivados do ácido cafeico, em virtude do seu amplo aspecto farmacológico e biológico, entre eles, atividades antifúngicas (BREGGER et al., 2007). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito antifúngico intrínseco e combinado do ácido cafeico sobre leveduras do gênero *Candida*.

Material e Métodos

Substâncias, Reagentes e Linhagens Utilizadas

O ácido cafeico (Sigma-Aldrich) foi pesado, diluído em dimetilsulfóxido (DMSO) e posteriormente em água. O antifúngico de referência fluconazol foi diluído em água.

Os micro-organismos utilizados foram linhagens do tipo padrão (CA INCQS 40006, CK INCQS 40095 e CT INCQS 40042) do gênero *Candida*. Estas linhagens, obtidas da Coleção de Culturas do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Osvaldo Cruz, fazem parte do acervo microbiológico do Laboratório de Micologia Aplicada do Cariri (LMAC) da Universidade Regional do Cariri, onde são conservadas em meio de cultura sólido (*Ágar Sabouraud Dextrose - ASD - KASVI*) a uma temperatura de 8 °C. Antes de cada teste foram feitos subcultivos em placas de *Petri* contendo o mesmo meio para garantir o crescimento de linhagens jovens e viáveis (MORAIS-BRAGA et al., 2016). Para os testes que foram realizados por microdiluição, o meio de cultura utilizado foi o *Caldo Sabouraud Dextrose (CSD - KASVI)* duplamente concentrado assegurando plenas condições de crescimento dos micro-organismos usados nos testes. Antes dos testes foi feita uma suspensão com os inóculos, padronizados conforme a escala 0,5 de MacFarland (1×10^8 UFC/mL).

Determinação da Atividade Antifúngica Intrínseca

O ensaio foi realizado pelo método de microdiluição em caldo, em placas de 96 poços. Em cada poço foi adicionado 100 µL de CSD duplamente concentrado contendo 10% de suspensão fúngica. Procedendo a microdiluição, 100 µL do ácido cafeico (16.384 µg/mL) ou antifúngico de referência, na mesma concentração, são inseridos na primeira cavidade, misturados e depois distribuídos aos demais poços, passando por um processo de diluição seriada (JAVADPOUR et al., 1996, com modificações). As concentrações variaram de 8.192 µg/mL a 8 µg/mL. Controles de diluição dos produtos (utilizando salina ao invés de inóculo) e de esterilidade do meio foram realizados. As placas foram incubadas por 24 horas a 37°C e após este período procedeu-se a

leitura em aparelho de espectrofotometria de ELISA (Termoplate®) com comprimento de onda (luz visível) de 630 nm. Os dados obtidos foram utilizados para obtenção da IC₅₀ e a curva de viabilidade celular (MORAIS-BRAGA et al., 2016).

Determinação da concentração fungicida mínima (CFM)

Para realização do teste, foi colocada em cada cavidade da placa do teste de CIM (exceto controle de esterilidade) uma pequena haste estéril descartável, e homogeneizado o meio contido no poço, em seguida foi transferido uma pequena alíquota da solução-teste (meio + inóculo + ácido cafeico) para uma placa de *Petri* contendo meio sólido (ASD). Após 24 horas de incubação, as placas foram verificadas quanto ao crescimento ou ausência de colônias de *Candida* spp., conforme Ernst et al. (1999), com modificações. A ausência de crescimento indica um efeito fungicida e a diminuição deste irá revelar um efeito fungistático.

Verificação do Efeito Modificador da Ação do Fluconazol

Para constatar se houve ou não potencialização da ação do antifúngico, a substância foi avaliada na concentração subinibitória (CFM/16), de acordo com a metodologia utilizada por Coutinho et al. (2008), com modificações na concentração e no método de leitura. Os poços da placa foram preenchidos com 100 µL da solução de meio + inóculo + ácido cafeico e em seguida, 100 µL do fluconazol na concentração de 16.384 µg/mL foi adicionado ao primeiro poço da coluna, e diluído seriadamente em concentrações que variaram de 8.192 à 8 µg/mL. O último poço da coluna foi destinado ao controle de crescimento fúngico. Foram realizados controles de diluição do produto (sendo inóculo substituído por salina) e de esterilidade do meio. Um controle com o fluconazol também foi feito para fins comparativos de efeito. Todo o teste foi executado em triplicata. As placas foram incubadas em estufa à uma temperatura de 37°C por 24 horas. A leitura foi realizada em aparelho de espectrofotometria de ELISA (Termoplate®) com comprimento de onda de 630 nm e os resultados foram utilizados para obtenção de uma curva de viabilidade celular e determinação de IC₅₀.

Os dados da leitura espectrofotométrica, foram verificados quanto a sua distribuição normal e, em seguida, analisados por ANOVA de uma via por meio do teste post hoc de Bonferroni. Os valores de IC₅₀ foram obtidos por regressão não linear para a finalidade da interpolação de valores a partir de curvas padrão (usando o software Graphpad Prism, v.5.0).

Resultados

De acordo com os dados obtidos, observa-se que o ácido cafeico isolado e associado ao fluconazol apresentou resultados clinicamente não relevantes (HOUGHTON et al., 2007). Os valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) do AC foram de 8.192 µg/mL para todas as cepas, não apresentando efeito fungicida. A CIM do fluconazol foi de 2.048 µg/mL para *C. albicans*, 512 µg/mL para *C. tropicalis* e 8.192 µg/mL para *C. krusei*. Observa-se na curva de viabilidade celular que o fluconazol (FCZ) reduziu o crescimento de todas as linhagens. Para o ácido cafeico o crescimento foi reduzido apenas em altas concentrações, a partir de 4096 µg/mL evidenciando efeito fungistático, conforme mostra a figura 1.

A modulação do ácido cafeico frente as linhagens de *Candida* spp. mostrou que o AC isolado como também associado ao fluconazol obtiveram efeitos semelhantes em que ambos reduziram as leveduras em concentrações elevadas. A CIM do fluconazol elevou-se na presença do AC, demonstrando efeito antagônico quando combinado. Os gráficos (Figura 1) mostram que houve interferência do ácido cafeico sobre a ação do fármaco e como consequência a não inibição do desenvolvimento dos fungos.

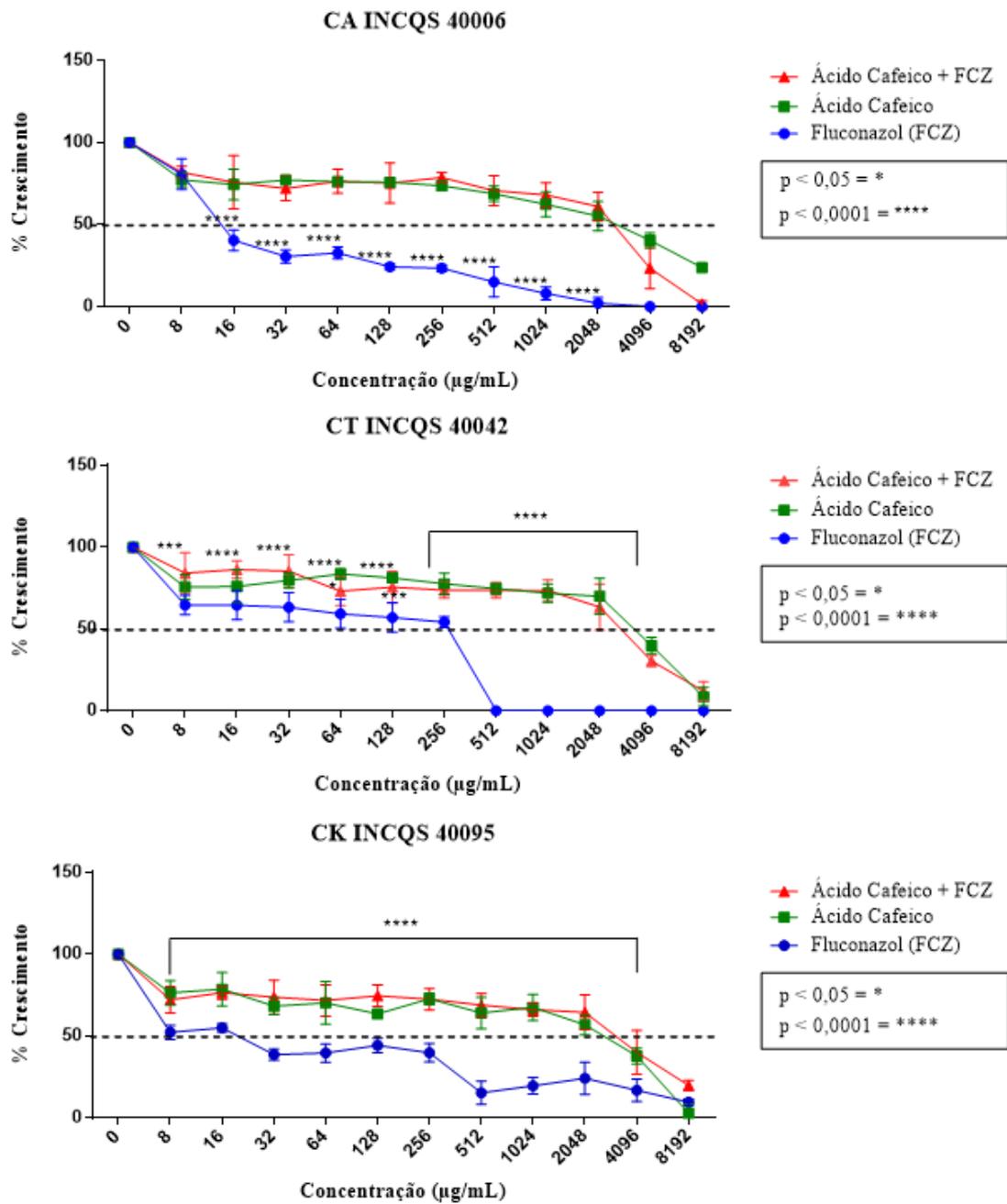


Figura 1. Curva de viabilidade celular da ação intrínseca de AC (ácido cafeico) e do Fluconazol (FCZ), e a sua associação sobre as cepas de *Candida albicans* (CA), *Candida tropicalis* (CT) e *Candida krusei* (CK). INCQS: Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde.

A tabela 1 contém os resultados da IC₅₀, sendo possível observar que os valores de IC₅₀ do fluconazol (variando de 14,83 a 234,10 µg/mL para as cepas do teste) aumentaram quando associado ao ácido cafeico (2243,68 à 2348,66 µg/mL) mostrando com mais clareza efeito de antagonismo.

Tabela 1- Resultados da IC₅₀ do ácido cafeico (µg/mL) isolado e associado ao fluconazol frente a leveduras do gênero *Candida*.

Linhagens	FCZ	Ácido Cafeico	Ácido Cafeico + FCZ
CA 40006	16,28	2606,56	2243,68
CT 40042	234,10	3402,65	2348,66
CK 40095	14,83	2848,57	3344,56

CA: *Candida albicans*; CT: *Candida tropicalis*; CK: *Candida krusei*; FCZ: fluconazole.

Discussão

O aumento na incidência de isolados de *Candida* resistentes aos antifúngicos, como os derivados azólicos, pode ter como consequência um acréscimo na taxa de mortalidade de pacientes com candidíase, relacionado também à dificuldade no tratamento (MISHRA et al., 2007). Neste trabalho, as cepas de *Candida* spp. apresentaram resistência ao fluconazol. Vieira e Nascimento (2016) afirmam que esta resistência se dá devido incapacidade do antifúngico agir no seu alvo, gerando uma resistência intrínseca, como no caso de *C. krusei*. De acordo com CLSI (2008), linhagens com CIM \geq 64 mg/mL para o fluconazol, são consideradas resistentes a este antifúngico. Segundo esta padronização, as cepas analisadas de *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei* foram todas resistentes ao fluconazol.

Nas condições experimentais utilizadas, o ácido cafeico não alterou a viabilidade celular dos fungos, inibindo fracamente as cepas de *Candida* spp. Portanto, o ácido cafeico isolado como também associado ao fluconazol não apresenta efeito fungicida nas concentrações testadas.

Sanglard e Odds (2002) salientam que resistência a quase todos os principais agentes antifúngicos têm sido observado em isolados clínicos de *Candida* spp. Devido à alta necessidade da inserção de novos antifúngicos potentes, uma variedade de substâncias naturais está sendo estudadas quanto à atividade antifúngica (BARROS et al., 2013; DANIELLI et al., 2013).

O ácido cafeico não apresentou ação clinicamente relevante contra as leveduras de *Candida* spp. em estudo. Desta maneira, a discussão destes resultados se torna difícil, uma vez que poucos trabalhos da atividade antagônica *in vitro* deste composto sobre cepas de *Candida* são relatados. Na atividade demonstrada pelo ácido cafeico sobre as leveduras observou-se que todas as cepas de *Candida* não apresentaram sensibilidade.

Trabalhos como o de De Vita et al. (2014), mostra que o ácido cafeico obteve resultados frente a cepas de *C. albicans*, em concentrações bem mais baixas apresentando atividade fungicida. Sardi e colaboradores (2016), evidenciam a ação do ácido cafeico associado ao

fluconazol apresentando sinergismo contra *Candida* spp. No trabalho de Melo (2015), mostra que o composto não possui efeito direto frente cepas de *C. albicans*. Já Day et al. (2015), ressalta que o ácido cafeico em concentrações que variam de 0,5 a 8,0 mg/ml, reduziu a CIM do fluconazol de 128,0 a 8,0 mg/ml contra *C. albicans*.

Estes resultados divergentes com o estudo aqui apresentado, deve-se a algumas diferenças na metodologia, especialmente no que se refere à leitura dos dados, uma vez que a mesma geralmente é feita por turbidez visual e aqui é procedida por método mais sensível como a espectrofotometria. Observa-se também que os micro-organismos podem apresentar diferenças fenotípicas o que pode interferir nos resultados (HIRAKAWA et al., 2015).

Conclusão

O resultado do efeito do ácido cafeico sozinho frente às cepas testadas não foi considerado clinicamente relevante, tendo em vista que a viabilidade celular foi reduzida apenas em altas concentrações. Seu efeito foi fungistático e os resultados da associação com o fluconazol mostraram um antagonismo, onde o ácido cafeico interferiu negativamente no efeito da droga.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade Regional do Cariri (URCA) pelo fornecimento de instalações de instrumentação.

Referências

ALVES, C. T.; FERREIRA IC.; BARROS G.; AZEREDO J.; HENRIQUES M. Antifungal activity of phenolic compounds identified in flowers from North Eastern Portugal against *Candida* species. **Future Microbiology**. v. 9, n. 2, p. 139-146, 2014.

ARENDRUP, M. C.; PATTERSON, T. F. Multidrug-resistant *Candida*: epidemiology, molecular mechanisms, and treatment. **The Journal of Infectious Diseases**. v. 216, p. S445-S451, 2017.

BARROS, F.M.; PIPPI, B.; DRESCH, R.R.; DAUBER., L.S.C.; APEL, M.A.; FUENTEFRIA, A.M.; VON POSER, G.L. Antifungal and antichemotactic activities and quantification of phenolic compounds in lipophilic extracts of *Hypericum* spp. native to South Brazil. **Industrial Crops and Products**. v. 44, p. 294-299, 2013.

BREGER, J.; FUCHS, B.B.; APERI, G.; MOY, T.I.; AUSUBEL, F.M.; MYLONAKIS, E. Antifungal chemical compounds identified using a *C. elegans* pathogenicity assay. **Plos**

Pathogens. v. 3, n. 2/e18, p. 168-178, 2007.

BRITO, D.I.V.; MORAIS-BRAGA, M.F.B.; CUNHA, F.A.B.; ALBUQUERQUE, R.S.; CARNEIRO, J.N.P.; LIMA, M.S.F.; LEITE, N.F.; SOUZA, C.E.S.; ANDRADE, J.C.; ALENCAR, L.B.B.; LAVOR, A.K.L.S.; FIGUEREDO, F.G.; LIMA, L.F.; COUTINHO, H.D.M. Análise fitoquímica e atividade antifúngica do óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* Cham. e do Timol contra cepas de *Candida* spp. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais.** v. 17, n. 4, p. 836-844, 2015.

CLSI - (Clinical and laboratory Standards Institute), formerly NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts**, approved standard M27-A3, national Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, v. 28, p.14. 2008.

COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J.G.M.; LIMA, E.O.; FALCÃO-SILVA, V.S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J.P. Enhancement of the Antibiotic Activity against a Multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and Chlorpromazine. **Chemother.** v.54, p.328–330, 2008.

DAY, L.; ZANG, C.; TIAN, S.; LIU, W.; TAN, S.; CAI, Z.; NI, T.; AN, M.; LI, R.; GAO, Y.; ZHANG, D.; JIANG, Y. Design, synthesis, and evaluation of caffeic acid amides as synergists to sensitize fluconazole-resistant *Candida albicans* to fluconazole. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters.** v. 25, n.1, 2015.

DANIELLI, L. J.; dos REIS, M.; BIANCHINI, M.; CAMARGO, G.S.; BORDIGNON, S.A.L.; GUERREIRO, I.K.; FUENTEFRIA, A.; APEL, M.A. Antidermatophytic activity of volatile oil and nano emulsion of *Stenachaenium megapotamicum* (Spreng.) Baker. **Industrial Crops and Products.** v. 50, p. 23-28, 2013.

DE VITA, D.; FRIGGERI, L.; D'AURIA, F. D.; PANDOLFI, F.; PICCOLI, F.; PANELLA, S.; TORTORELLA, S. Activity of caffeic acid derivatives against *Candida albicans* biofilm. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters.** v. 24 n.6, p.1502-1505, 2014.

ERNST, E.J.; KLEPSE, M.E.; ERNST, M.E.; MESSER, S.A.; PFALLER, M.A. *In vitro* pharmacodynamic properties of MK-0991 determined by time-kill methods. **Diagnostic Microbial. and Infec. Disease.** v. 33, n.2, p.75-80, 1999.

GARAMBONE, E.; ROSA, G. Possíveis benefícios do ácido clorogênico à saúde. **Alimentos e Nutrição.** v. 18, p. 229-235, 2007.

HIRAKAWA, M. P.; MARTINEZ, D.A.; SAKTHIKUMAR, S.; ANDERSON, M.Z.; BERLIM, A.; GUJJA, S.; ZENG, Q.; ZISSON, E.; WANG, J.M.; GREENBERG, J.M.; BERMAN, J.; BENNETT, R.J.; CUOMO, C.A. Genetic and phenotypic intra-species variation in *Candida albicans*. **Genome research.** v. 25, n. 3, p. 413-425, 2015.

HOUGHTON, P. J.; HOWES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Uses and abuses of in vitro tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. **Journal of Ethnopharmacology.** v.110, n.3, p.391-400, 2007.

JAVADPOUR, M. M., et al. De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity, **Journal of Medicinal Chemistry.** v. 39, p. 3107–3113, 1996.

KADOSH, D.; LOPEZ-RIBOT, J. L. *Candida albicans*: adapting to succeed. **Cell Host & Microbe**. v. 14, n. 5, p. 483-485, 2013.

KOROSEC, B.; SOVA, M.; TURK, S.; KRAEVEC, N.; NOVAK, M.; LAH, L.; STOJAN, J.; PODOBNIK, B.; BERNE, S.; ZUPANEC, N.; BUNC, M.; GOBEC, S. E.; KOMEL, R. Antifungal activity of cinnamic acid derivatives involves inhibition of benzoato 4-hidroxiylase (CYP53). **Journal of Applied Microbiology**. v. 116, n. 4, p. 955-966, 2014.

MELO, L. L. de. **Ação imunomoduladora do ácido cafeico, um metabólito secundário da *Baccharis dracunculifolia*, sobre os neutrófilos humanos estimulados por agentes solúveis e particulados**. 2015. Dissertação (Mestrado em Imunologia Básica e Aplicada) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

MENEZES, E. A.; MENDES, L. G.; CUNHA, F. A. Resistência a antifúngicos de *Candida tropicalis* isoladas no Estado do Ceará. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 42, n.3, p.354-355, 2009.

MISHRA, N. N.; PRASAD, T.; SHARMA, N.; PAYASI, A.; PRASAD, A.; PRASAD, R.; GUPTA, D.K.; SINGH, R. Pathogenicity and drug resistance in *Candida albicans* and other yeast species. **Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica**. v. 54, n. 3, p. 201-235, 2007.

MORAIS-BRAGA, M. F. B.; VENDAS, D.L.; CARNEIRO, J.N.P.; MACHADO, A.J.T.; DOS SANTOS, A.T.L.; DE FREITAS, M.A.; MARTINS, G.M.A.B.; LEITE, N.F.; DE MATOS, Y.M.L.S.; TINTINO, S.R.; SOUZA, D.L.S.; MENEZES, I.R.A.; RIBEIRO FILHO, J.M.; COSTA, J.G.M.; COUTINHO, H.D.M. *Psidium guajava* L. and *Psidium brownianum* Mart ex DC.: chemical composition and anti and *Candida* effect in association with fluconazole. **Microbial Pathogenesis**. v. 95, p. 200-207, 2016.

NARDINI, M.; PAOLA, P.; VICENZO, G.; FAUSTA, M. de F.; ENZA, P.; CRISTINA, S. Effect of caffeic acid on tert-butyl hydroxiperoxide-induced oxidative stress in U937. **Free Radical Biology & Medicini**. v. 25, n. 9, p. 1098-1105, 1998.

NUNES, E. B.; NUNES, N. B.; MONTEIRO, J. C. M. S.; PAES, A. L. V. Perfil de sensibilidade do gênero *Candida* a antifúngicos em um hospital de referência da Região Norte do Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**. v. 2, 4, p. 23-30, 2011.

SANGLARD, D.; ODDS, F. Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. **The Lancet infectious diseases**. v. 2, p. 73-85, 2002.

SARDI, J. C.; GULLO, F.P.; FREIRES, IA.; PINTANQUINI, N.S.; SEGALLA, N.S.; FUSCO-ALMEIDA, A.M.; ROSALEN, P.L.; REGASINI, L.O.; MENDDES-GIANNINI, M.J. Synthesis, antifungal activity of caffeic acid derivative, and their synergism with fluconazole and nysttin against *Candida* spp. **Diagnostic Microbiology & Infectious Disease**. v. 86. n. 4, p. 387-391, 2016.

SHANKAR, J.; SOLIS, N.V.; MOUNAUND, S.; SZPAKOWSKI, S.; LIU, H.; LOSADA, L.; NIERMAN, W.C.; ENCHIMENTO, S.G., Using Bayesian modelling to investigate factors governing antibiotic-induced *Candida albicans* colonization of the GI tract. **Scientific Reports**.

v. 5, p. 8131, 2015.

VIEIRA, F.; NASCIMENTO, T. Resistência a Fármacos Antifúngicos por *Candida* e Abordagem Terapêutica. **Revista Portuguesa de Farmacoterapia**. v. 9, n. 3, p. 29-36, 2017.

Recebido: 06/08/2019

Aceito: 20/12/2019