

---

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE *Curcuma longa* SOBRE *Candida parapsilosis*

---

---

Danillo dos Reis Pacheco<sup>1</sup>, Dannúbia Emanuelle Dâmaso Soares<sup>1</sup>, Carlos de Melo Silva Neto<sup>2</sup>, Gilmar Aires da Silva<sup>1</sup> e Renata Silva do Prado<sup>1</sup>

---

### RESUMO

Dentre as infecções fúngicas que acometem seres humanos, a candidíase adquire relevância e *Candida albicans* é o agente etiológico mais comum, porém têm emergido episódios de candidíase causada por outras espécies como *Candida parapsilosis*. O Cerrado brasileiro possui uma grande diversidade de plantas e a *Curcuma longa*, planta vastamente encontrada neste bioma, tem sido estudada por sua capacidade tanto antibacteriana quanto antifúngica. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica de *C. longa* sobre *C. parapsilosis* por meio da análise da capacidade inibitória de extratos de diferentes partes da referida planta sobre o fungo. Foi avaliada a atividade antifúngica dos extratos etanólicos de rizoma e folhas de *C. longa* por meio do método de macrodiluição seriada, determinando-se a concentração inibitória mínima (CIM), e por meio do teste de sensibilidade em placas e do método de disco de difusão. Além disso, avaliou-se o sinergismo entre os extratos em associação com antifúngicos tradicionalmente utilizados. *C. longa* apresentou atividade inibitória sobre o crescimento de *C. parapsilosis* com valor de CIM (500 ppm) obtido a partir dos extratos etanólicos de rizoma e folha. Foi possível observar atividade sinérgica entre a folha e anfotericina B e atividade antagonista entre rizoma e anfotericina B. Conclui-se que os extratos de folha e rizoma de *C. longa* apresentam atividade antifúngica sobre *C. parapsilosis* de maneira dose-dependente, evidenciando o potencial antifúngico da referida planta.

DESCRITORES: *C. parapsilosis*; candidíase; *C. longa*; plantas medicinais; inibidor; Cerrado.

### ABSTRACT

Antifungal activity evaluation of *Curcuma longa* on *Candida parapsilosis*

Among fungal infections that affect human beings, candidiasis has significant relevance. Its most common etiological agent is *Candida albicans*, but over the past three decades candidiasis

---

1. Faculdade de Farmácia, FACER Faculdades- Unidade de Ceres, Ceres, GO, Brasil.

2. Instituto de Ciências Biológicas II, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brasil.

Endereço para correspondência: Renata Silva do Prado, Av. Brasil, s/n, Qd. 13, Morada Verde, CEP 76300-000 Ceres, GO, Brasil.  
E-mail: renata.ufg@hotmail.com

Recebido para publicação em: 24/4/2015. Revisto em: 14/8/2015. Aceito em: 23/9/2015.

episodes caused by other species, such as *Candida parapsilosis*, have emerged. The Brazilian Cerrado has a huge morphological diversity of plants. *Curcuma longa*, a plant widely found in this biome, has been studied both for its antibacterial and antifungal activity. The aim of this study was to evaluate the antifungal activity of *C. longa* on *C. parapsilosis* by analyzing the inhibitory capacity of extracts from different parts of the plant on the fungus. The antifungal activity of ethanolic extracts from rhizomes and leaves of *C. longa* was evaluated by the macrodilution method, determining the minimum inhibitory concentration (MIC), alongside sensitivity testing performed in plates and by the diffusion disk method. We also evaluated the synergy between the extracts in combination with traditional antifungal drugs. *C. longa* has antifungal activity on the growth of *C. parapsilosis* with a MIC value obtained from ethanolic extracts of 500 ppm for rhizomes and leaves. It was possible to observe synergistic activity between the leaf extracts and amphotericin B and antagonistic activity between rhizome extracts and amphotericin B. It may be concluded that the leaf and rhizome extracts of *C. longa* have antifungal activity against *C. parapsilosis* in a dose-dependent manner, showing the antifungal potential of the plant

KEY WORDS: *C. parapsilosis*; candidiasis; *C. longa*; inhibitor; medicinal plants; cerrado.

## INTRODUÇÃO

Nas últimas três décadas, houve um aumento no aparecimento de infecções fúngicas, principalmente as oportunistas invasivas, gerando um problema de saúde pública (Asbeck et al., 2009). Tais infecções atingem, sobretudo, pacientes imunodeprimidos e em unidades de terapia intensiva (UTI) com doenças múltiplas (Seabra, 2011).

Neste contexto, a candidíase adquire relevância por ser uma infecção que pode variar desde manifestações frequentes, como colonização na mucosa vaginal e oral, até o desenvolvimento de maneira sistêmica por via hematogênica ou linfática (Develoux & Bretagne, 2005, Williams et al., 2011). Seu agente etiológico mais frequente é *Candida albicans* (60% dos casos). Entretanto, nas últimas décadas emergiram episódios de candidíase causada por outras espécies de *Candida*, como *Candida parapsilosis* (Castón-Osorio et al., 2008; Andes et al., 2012; Peixoto et al., 2014).

*C. parapsilosis*, descrita inicialmente em 1928 (Ashford, 1928), é considerada um organismo comensal que, no entanto, torna-se patogênico quando há um comprometimento do balanço fisiológico da microbiota ou do sistema imune do indivíduo (Naglick et al., 2003, Horn et al., 2012). Tornou-se um importante patógeno causador de infecções hospitalares. Na Europa e Ásia, os casos de candidíase provocados por *C. parapsilosis* superam o número de casos ocasionados por *C. albicans*. No Brasil, é responsável por 25,8% dos casos de candidíases. Por conseguinte, é considerada a segunda espécie mais comum de *Candida* (Antunes et al., 2004, Trofa et al., 2008, Barbedo & Sgarbi, 2010).

As plantas medicinais são usadas pela humanidade para fins terapêuticos há vários séculos, sendo capazes de sintetizar metabólitos que possuem ações farmacológicas diversificadas, dentre elas a ação antifúngica

(Dixon, 2001; Ferro, 2008; Savithramma et al., 2011). Além disso, pesquisas que envolvem plantas medicinais podem levar à descoberta de componentes que sirvam como fármacos ou como protótipos de fármacos (Gobbo & Lopes, 2007; Ibekwe & Ameh, 2014).

*Curcuma longa*, planta vastamente encontrada no Cerrado, é conhecida popularmente como açafrão, gengibre dourado, cúrcuma, açafrão da Índia ou açafrão da terra, sendo seus componentes denominados como curcuminoides (Naguetini, 2006, Sigrist et al., 2011, Kumar et al., 2011). A atividade biológica de *C. longa* tem sido estudada por sua capacidade tanto antibacteriana quanto antifúngica. Estudos comprovaram sua atividade contra diversas espécies de fungos, como *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus parasiticus* e *Candida albicans* (Dhingra et al., 2007, Hegde et al., 2012, Ferreira et al., 2013).

Assim, em razão do aumento do número de indivíduos imunocomprometidos, do aparecimento de isolados resistentes e multirresistentes, juntamente com a elevada incidência de candidíase localizada e sistêmica e a toxicidade dos antifúngicos existentes, torna-se indispensável a busca por novas terapias (Hahn et al., 2003, Bergold & Georgiadis, 2004, Sheikh et al., 2013, Xie et al., 2014).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica de *Curcuma longa* sobre *Candida parapsilosis* por meio da análise da capacidade inibitória de extratos de diferentes partes da referida planta sobre o fungo, determinando a concentração inibitória mínima (CIM) dos diferentes extratos e seus halos de inibição sobre o crescimento fúngico. Além disso, avaliou-se o sinergismo existente entre antifúngicos tradicionalmente utilizados e os extratos obtidos.

## METODOLOGIA

Foi realizado um estudo de caráter quali-quantitativo, de abordagem indutiva, com procedimento comparativo estatístico e técnica de documentação direta em laboratório.

### Coleta do material vegetal

A coleta de folhas e rizomas de *C. longa* foi realizada na cidade de São Luiz do Norte - GO/Brasil, situada na região do Vale do São Patrício (coordenadas geográficas 14°51'41.4"S; 49°19'44.4"O). As amostras foram identificadas e reconhecidas pelo professor MSc. Carlos de Melo e Silva, mestre em Botânica (Universidade Federal de Goiás, UFG) e, posteriormente, armazenadas no laboratório de Microbiologia da Faculdade de Ceres (FacerGO).

## Obtenção dos extratos de *C. longa*

A obtenção dos extratos de *C. longa* foi realizada de acordo com Moraes e colaboradores (2010) com modificações, por se tratar de espécies diferentes de plantas, mas igualmente quanto à marcha analítica. As folhas (secas em temperatura ambiente) e os rizomas (secos em estufa a 30°C) de *C. longa* foram macerados e, após esse processo, armazenados em frasco escuro contendo etanol (proporção 1:4) mantido sob refrigeração. Posteriormente, esta amostra foi filtrada e seca com auxílio de rotaevaporador. O extrato resultante foi armazenado em um frasco âmbar ao abrigo da luz, a 4°C (Costa, 2013).

## Cultivo e manutenção do fungo

Para a realização do cultivo, a cepa de *C. parapsilosis* ATCC (*American Type Culture Collection* - 22019) foi cultivada em meio Ágar Sabouraud Dextrose (Peptona 10g/L; Dextrose 40g/L; Ágar 15g/L). A cepa de *C. parapsilosis* ATCC foi mantida em estufa a 36°C por 72 horas, quando foi submetida à experimentação ou novo repique (Menezes et al., 2012).

## Teste de diluição em caldo

Os ensaios de inibição foram realizados pelo método de macrodiluição de acordo com a diretriz NCCLS M27-A2 (2002) com modificações, por se tratar de espécies diferentes de microrganismos, mantendo-se a metodologia proposta. Células de *C. parapsilosis* foram mantidas em meio ágar nutriente suplementado com glicose por três dias, a 36°C, e inoculadas em meio nutriente líquido acrescido dos diferentes extratos de *C. longa*. Diluições seriadas das soluções em estoque dos extratos foram preparadas em meio nutriente como diluente para que fossem obtidas concentrações finais diferentes dos compostos em estudo. O crescimento do fungo foi determinado de acordo com Prado e colaboradores (2014) com modificações, por se tratar de espécies diferentes de microrganismos, com exceção do tempo de incubação do ensaio (3 dias ao invés de 7 dias). Foi realizada análise espectrofotométrica a 520 nm após três dias de crescimento, quando foi possível determinar a CIM.

## Teste de sensibilidade em placas

Para o teste de sensibilidade em meio sólido, amostras contendo um número de  $10^4$  células de *C. parapsilosis*, com três dias de crescimento em 30 mL de ágar nutriente suplementado com glicose, foram transferidas para novas placas que continham o mesmo meio de cultura somado aos extratos de *C. longa* em diferentes concentrações. As placas foram incubadas por três dias a 36°C antes de serem fotografadas, de acordo com Betoni et al. (2006) com modificações, por se tratar de espécies diferentes de microrganismos, seguindo-se os preceitos metodológicos, com exceção do tempo de cultivo antes da fotografia (3 dias ao invés de 24 horas).

## Teste de sinergismo

Para o teste de sinergismo, foram preparadas placas-controle contendo os extratos de rizoma (500ppm) e folha (250ppm) de *C. longa*, além de placas-controle com drogas conhecidas (anfotericina B  $IC_{50}=0,0625 \mu\text{g/mL}$  e sulfonamida  $IC_{50}=10 \mu\text{g/mL}$ ). As placas de teste, para avaliação da atividade sinérgica entre extratos etanólicos de rizoma e folha de *C. longa* em combinação com anfotericina B e sulfonamida, foram construídas em triplicatas biológicas, sendo utilizadas as mesmas concentrações dos extratos de rizoma e folha, bem como da anfotericina e sulfonamida das placas-controle. Os testes foram assim distribuídos: interação entre rizoma e anfotericina B, interação entre rizoma e sulfonamida, interação entre folha e anfotericina B e interação entre sulfonamida e folha. As placas foram incubadas por três dias a  $36^{\circ}\text{C}$  antes de serem fotografadas, segundo Betoni et al. (2006) com modificações, por se tratar de espécies diferentes de microrganismos, seguindo a mesma marcha analítica, com exceção do tempo de cultivo antes da fotografia (3 dias ao invés de 24 horas).

## Teste de sensibilidade por disco de difusão

Discos de papel esterilizados (diâmetro de 6 mm) foram embebidos previamente nos extratos obtidos da planta em diferentes concentrações. Posteriormente, foram inoculados  $1,5 \times 10^8$  células/mL de *C. parapsilosis* em placas de meio nutriente e, em seguida, os discos foram retirados dos tubos com uma pinça esterilizada e colocados sobre as placas contendo o meio. As placas foram incubadas em estufa, a  $36^{\circ}\text{C}$ , por três dias, após esse período foram mensurados os halos de inibição do crescimento, em milímetros, com o auxílio de um paquímetro (Bauer et al., 1966, NCCLS, 2002).

## Análise estatística

Todos os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados apresentados com análises de média e desvio padrão. Foi aplicado teste de ANOVA para a comparação dos valores obtidos no teste de diluição em caldo. Para as comparações estatísticas, foi utilizado o *software* Estatística versão 8.0. Os valores foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Obtenção de extratos de *C. longa*

Após a secagem, os extratos de folhas e rizoma de *C. longa* foram pesados e a porcentagem de rendimento calculada, como mostra a Tabela 1.

Tabela 1. Obtenção de extratos de *C. longa*

Espécie	Extrato	Massa (g)	EE (g)	Rendimento (%)
<i>C. longa</i>	Folha	1,2637	0,535	53,50
	Rizoma	5,7484	0,127	12,70

EE = extrato etanólico

Desse modo, para 1,26g de folhas e 5,74g de rizoma, os percentuais de rendimento dos extratos foram de 53,5% e 12,7%, respectivamente.

Naghetini (2006), utilizando 60g de cúrcuma em pó e hexano como solvente, obteve 4,8% de rendimento. Sawant & Godghate (2013) utilizaram acetona, metanol, etanol e clorofórmio para obtenção de extratos curcuminoides. Como resultado, o percentual de rendimento da extração com o uso de etanol foi maior quando comparado com os demais solventes (25%). Em estudo utilizando o etanol como solvente, Bagchi (2012) obteve rendimento que variou entre 4,5% e 12,9%.

### Teste de diluição em caldo (CIM)

O teste de diluição em caldo é um método quantitativo usado para determinar a concentração inibitória mínima (CIM). Assim, de acordo com a diretriz NCCLS M27-A2 (2002) com modificações, para a determinação quantitativa da CIM dos compostos curcuminoides, diluições seriadas de soluções em estoque dos extratos de folha e rizoma de *C. longa* foram testadas quanto ao crescimento de células de *C. parapsilosis*. Os resultados são mostrados na Figura 1.

Analisando a figura, percebe-se que a CIM, tanto para rizoma quanto para folha de *C. longa*, foi de 500 ppm.

No estudo de Singh e colaboradores (2002), extratos de *C. longa* foram efetivos contra o fungo *Fusarium moniliforme* na concentração de 1000 ppm. Já David (2013) obteve valores de CIM para compostos hexânicos de *C. longa* entre 62 e 184 µg/mL sobre cepas de *Candida* spp. Goulart e colaboradores (2013), avaliando a atividade antifúngica de extratos hexânicos das folhas e casca de *Agonandra brasiliensis* (pau-marfim) sobre o crescimento de *C. parapsilosis*, obtiveram concentração inibitória mínima de 300 µg/mL.

### Teste de diluição em caldo (CIM)

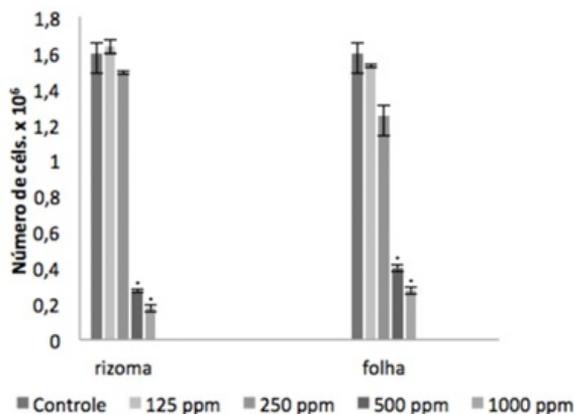


Figura 1. Teste de diluição em caldo dos extratos etanólicos de *C. longa* nas concentrações de 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm e 1000 ppm sobre o crescimento de *C. parapsilosis*.

### Teste de sensibilidade em placa

Amostras contendo  $10^4$  como concentração de células fúngicas foram inoculadas em meio ágar nutriente suplementado com os compostos curcuminoides nas concentrações de 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm e 125 ppm (Figura 2). Levando-se em consideração a placa controle, os resultados mostram que o crescimento de *C. parapsilosis* foi inibido de maneira dose-dependente a partir da concentração de 500 ppm do extrato etanólico obtido a partir tanto de rizoma quanto de folha, caracterizando este valor como concentração inibitória mínima (CIM).

### Teste de sensibilidade em placa

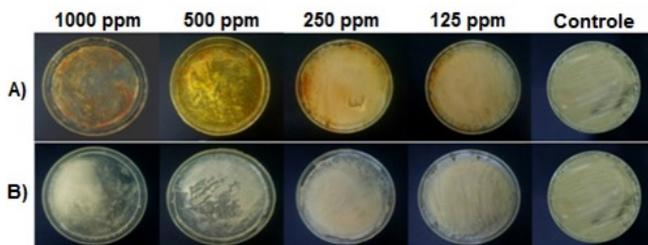


Figura 2. Crescimento de *C. parapsilosis* em ágar nutriente suplementado com extratos etanólicos de rizoma (A) e folha (B) de *C. longa* nas concentrações de 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm e 125 ppm.

A atividade antifúngica de *C. longa* foi evidenciada por outros autores, como no estudo de Sousa e colaboradores (2010) no qual extratos de *C. longa* inibiram o crescimento de *Colletotrichum lindemuthianum* em uma concentração de 4 mg/mL. A atividade antifúngica de extratos a 50 mg/mL de *C. longa* também foi observada contra *Fusarium oxysporum f.sp. Lycopersici*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Sclerotium rolfsii* (Wongkaew&Sinsiri, 2014).

#### Teste de interação com drogas tradicionalmente utilizadas

Os resultados obtidos podem ser observados na Figura 3.

Quando comparados com a placa-controle de *C. parapsilosis* sem nenhum inibidor (A1), os resultados mostram presença de atividade sinérgica na placa que contém extrato de folha e anfotericina B (C4), bem como na placa que contém extrato de folha e sulfonamida (D4). Já na placa onde há fungo, extrato de rizoma e anfotericina B (A4), observa-se uma melhora no crescimento do fungo, caracterizando atividade antagônica do extrato sobre a anfotericina. Na placa contendo fungo, extrato de rizoma e sulfonamida (B4), os resultados mostram inibição do crescimento do fungo, porém sem caracterizar atividade sinérgica ou antagônica.

#### Teste de interação com drogas tradicionalmente utilizadas

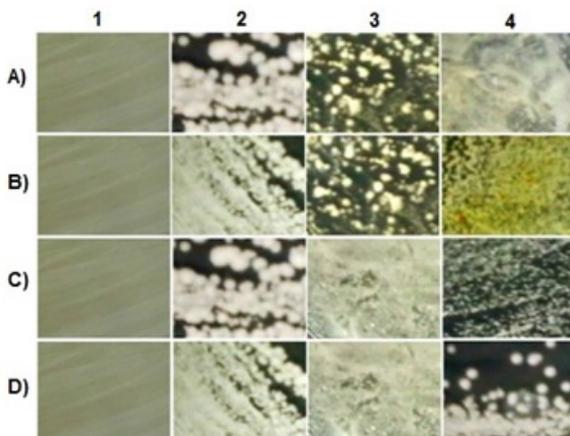


Figura 3. Teste de atividade sinérgica entre extratos etanólicos de rizoma e folha de *C. longa* em combinação com anfotericina B e sulfonamida. (A) Interação entre rizoma e anfotericina B, onde A1 controle *C. parapsilosis*, A2 controle anfotericina B, A3 controle rizoma e A4 rizoma e anfotericina B. (B) Interação entre rizoma e sulfonamida, onde B1 controle *C. parapsilosis*, B2 controle sulfonamida, B3 controle rizoma e B4 rizoma e sulfonamida. (C) Interação entre folha e anfotericina B, onde C1 controle *C. parapsilosis*, C2 controle anfotericina B, C3 controle folha, C4 folha e anfotericina B. (D) Interação entre sulfonamida e folha, onde D1 controle de *C. parapsilosis*, D2 controle sulfonamida, D3 controle folha e D4 sulfonamida e folha.

Diversos estudos descrevem o sinergismo entre compostos oriundos de plantas e antifúngicos tradicionalmente utilizados. Ação sinérgica entre extratos de *Eisenia bicyclis* (4 mg/mL) e fluconazol foi encontrada por Kim e colaboradores (2014). Sinergismo também foi observado por Rukayadi e colaboradores (2009) entre o sesquiterpeno xantorizol obtido de *Curcuma xanthorrhiza* (Gengibre javanês) e anfotericina B sobre *Candida* spp.

Contudo, a associação entre extratos de plantas e antimicrobianos tradicionalmente utilizados também pode gerar antagonismo. Tal situação foi vista por Castro (2010) com a associação entre o óleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum* (Caneleira) e o antifúngico miconazol diante das cepas de *C. albicans*. Na pesquisa de Tintino e colaboradores (2013), extratos etanólicos de *Costus arabicu* (Canela-de-ema) apresentaram antagonismo quando associados ao antifúngico nistatina sobre *Candida krusei*.

#### Teste de disco de difusão

O disco de difusão é um método físico empregado para testes de sensibilidade antimicrobiana. Neste teste, o micro-organismo é avaliado ante uma substância biologicamente ativa, que pode ser um extrato vegetal ou um antimicrobiano. É feito em meio de cultura sólido, tendo como indicativo de inibição do crescimento a formação de um halo de inibição pela concentração da substância (Gadea, 2008; Fernandes, 2011; Takeuchi, 2012).

Os resultados obtidos com este teste são mostrados na Figura 4.

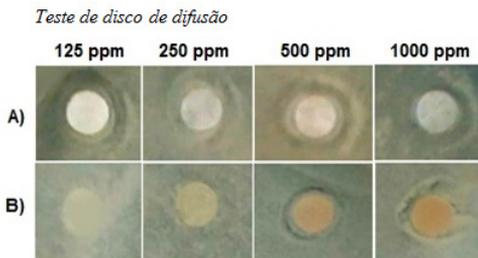


Figura 4. Teste de disco de difusão entre extratos etanólicos de folha (A) e rizoma (B) de *C. longa* sobre *C. parapsilosis*.

Para os extratos etanólicos de folha (A), os halos de inibição do crescimento de *C. parapsilosis* apresentaram as medidas de 125 ppm= 8,4 mm, 250 ppm=10,4 mm, 500 ppm=10,4 mm e 1000 ppm=10,6 mm. Para os extratos de rizoma (B), nas concentrações de 125 e 250 ppm, não houve inibição do crescimento. Já nas concentrações de 500 e 1000 ppm, as medidas de inibição foram 9,4 mm e 10,2 mm, respectivamente.

Tendo o teste de disco de difusão como metodologia para a avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de plantas, Almeida (2006) obteve zona de inibição de 12,02 mm para extratos de cúrcuma sobre *Aspergillus niger* 11,55 mm sobre *Saccharomyces cerevisiae*. Rath & Ray (2012), avaliando a atividade antifúngica de extratos de *C. longa* sobre *Cryptococcus neoformans* e *C. albicans*, obtiveram zona de inibição de 14 mm e 12 mm, respectivamente. Com o intuito de avaliar a funcionalidade da avaliação da atividade antifúngica de extratos de cúrcuma obtidos por hexano pelo teste de disco de difusão, Naghetini (2006) utilizou anfotericina B como controle positivo. Os halos de inibição encontrados pelo autor foram de 16,07 mm para anfotericina B e 10,89 mm para os extratos hexânicos de cúrcuma sobre o fungo *Aspergillus flavipes*.

## CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos no teste de diluição em caldo, será considerado como CIM para os extratos de rizoma e folha de *C. longa* o valor de 500 ppm. Tal escolha se justifica pelo fato de esse método ser considerado padrão-ouro pelo NCCLS em testes de sensibilidade a antimicrobianos (NCCLS, 2002; Benaducci, 2009).

Assim, pode-se concluir que os extratos de folha e rizoma de *C. longa* apresentam atividade antifúngica sobre *C. parapsilosis* de maneira dose-dependente (CIM<sub>RIZOMA</sub>=500 ppm; CIM<sub>FOLHA</sub>=500 ppm), o que evidencia o potencial antifúngico da referida planta.

## REFERÊNCIAS

1. Alavijeh PK, Alavijeh PK, Sharma D. A Study of Antimicrobial Activity of Few Medicinal Herbs. *Asian J Plant Sci Res* 2: 496-502, 2012.
2. Almeida LP. Caracterização de Pigmentos da *Curcuma longa* L., Avaliação da Atividade Antimicrobiana, Morfogênese in vitro na Produção de Curcuminóides e Óleos Essenciais. Belo Horizonte [Tese de Doutorado em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais], 2006.
3. Andes DR, Safdar N, Baddley JW, Playford G, Reboli AC, Rex JH, Sobel JD, Pappas PG, Kullberg BJ. Impact of Treatment Strategy on Outcomes in Patients with Candidemia and Other Forms of Invasive Candidiasis: A Patient-Level Quantitative Review of Randomized Trials. *Clin Infect Dis* 54: 1110-1122, 2012.
4. Antunes AGV, Pasqualotto AC, Diaz MC, Azevedo PA, Severo LC. Candidemia in a Brazilian Tertiary Care Hospital: species distribution and antifungal susceptibility patterns. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 46: 239-241, 2004.
5. Antunes RMP, Lima EO, Arruda TA, Catão RMR, Barbosa TP, Nunes XP, Silva TMS. Atividade antimicrobiana "in vitro" e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. *Rev Bras Farmacogn* 16: 517-524, 2006.

6. Asbeck EC, Clemons KV, Stevens DA. *Candida parapsilosis*: a review of its epidemiology, pathogenesis, clinical aspects, typing and antimicrobial susceptibility. *Informa Healthcare* 35: 283-309, 2009.
7. Ashford B. Certain conditions of the gastrointestinal tract in Puerto Rico and their relation to tropical sprue. *Am J Trop Med Hyg* 8: 507-538, 1928.
8. Bagchi A. Extraction of Curcumin. *J Environm Sci Toxicol Food Technol (IOSR-JESTFT)* 1: 2319-2402, 2012.
9. Barbedo LS, Sgarbi DBG. Candidíase. *J Bras Doenças Sex Transm* 22: 22-38, 2010.
10. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disc Method. *Am J Clin Pathol* 45: 493-496, 1966.
11. Benaducci T. Sensibilidade à Antifúngicos Sintéticos e Naturais Anti-*Cryptococcus neoformans* determinados por Citometria de Fluxo. Araraquara [Dissertação de Mestrado em Biociências e Biotecnologia – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP], 2009.
12. Bergold AM, Georgiadis S. Novidades em fármacos antifúngicos: uma revisão. *Visão Acadêmica* 5: 159-172, 2004.
13. Betoni JEC, Mantovani RP, Barbosa LN, Stasi LCD, Junior AF. Synergism Between Plant Extract and Antimicrobial Drugs Used on *Staphylococcus aureus* diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101: 387-390, 2006.
14. Castón-Osório JJ, Rivero A, Torre-Cisneros J. Epidemiology of invasive infection. *International Journal of Antimicrobial Agents* 32: 103-109, 2008.
15. Castro RD. Atividade Antifúngica do Óleo Essencial de *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) e de sua Associação com Antifúngicos Sintéticos Sobre Espécies de *Candida*. João Pessoa [Tese de Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos – Universidade Federal da Paraíba], 2010.
16. Costa FIB. Caracterização e avaliação da atividade antioxidante de farinhas produzidas a partir dos resíduos de Umbu (*Spondias tuberosa* Arruda Cam.) e Maracujá do Mato (*Passiflora cincinnata* Mast.). Itapetinga [Dissertação de Mestrado em Meio Ambiente e Desenvolvimento – Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia], 2013.
17. David LE. Avaliação das Atividades Citotóxica, Antifúngica e do Potencial de Segurança in vivo de ar-turmerona (*Curcuma longa* L.). Guarapuava [Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas – Unicentro], 2013.
18. Develoux M, Bretagne S. Candidiasis and yeast infections. *EMC-Maladies Infectieuses* 2: 119-139, 2005.
19. Dhingra OD, Jham GN, Barcelos RC, Mendonça FA, Ghiviriga I. Isolation and Identification of the Principal Fungitoxic Component of Turmeric Essential Oil. *Journal of Essential Oil* 19: 387-391, 2007.
20. Dixon RA. Natural products and plant disease resistance. *Nature* 411: 843-847, 2001.
21. Fernandes AFC. Avaliação da Atividade Antimicrobiana do Extrato Etanólico e Fases Particionadas de *Myracrodruon urundeuva* Fr. Alemão (Aroeira-do-Sertão). Campina Grande [Monografia de Bacharel em Farmácia – Universidade Estadual da Paraíba], 2011.
22. Ferreira MRA, Santiago RR, Zucolotto L, Mello JCP, Svidzinski TIE, Soares LAL. Antifungal activity of medicinal plants from North eastern Brazil. *J Med Plants Res* 7: 3008-3013, 2013.
23. Ferro D. *Fitoterapia - Conceitos clínicos*. Atheneu, São Paulo, 2008.
24. Gadea SFM. Avaliação da Atividade Antimicrobiana do Extrato Bruto e suas Frações de *Glischrothamnus ulei* (Molluginaceae) do Semi-Árido Baiano. Feira de Santana [Dissertação de Mestrado em Biotecnologia – Universidade Estadual de Feira de Santana], 2008.

25. Gobbo NL, Lopes NP. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química nova* 30: 374-381, 2007.
26. Goulart LS, Telles HL, Mendes VA, Moura SV, Ramon JL, Souza JM, Vieira JCS, Campos EP. Prospecção Antifúngica em *Agonandra brasiliensi*. *Rev Bras Farmacogn* 94: 289-294, 2013.
27. Hahn RC, Morato Conceição YT, Santos NL, Ferreira JF, Hamdan JS. Disseminated Paracoccidioidomycosis: Correlation Between Clinical and in vitro Resistance to Ketoconazole and Trimethoprim Sulphamethoxazole. *Mycoses* 46: 342-347, 2003.
28. Hegde MN, Shetty S, Mahalaxmi Y, Patil AB. An in vitro Evaluation of Antimicrobial Activity of Aqueous *Curcuma longa* Extract Against Endodontic Pathogens. *Int J Res Phytochem* 2: 1-6, 2012.
29. Horn F, Heinekamp T, Pollmacher J, Valiante V, Brrakhage A. Systems Biology of Fungal Infection. *Frontiers in Microbiology* 3: 1-20, 2012.
30. Ibekwe NN, Ameh SJ. Plant Natural Product Research in tuberculosis Drug Discovery and Development: A Situation Report with Focus on Nigerian Biodiversity. *African Journal of Biotechnology* 13: 2307-2320, 2014.
31. Kim K, Eom SH, Kim H, Nshimiyumukiza O, Kim D, Lee M. Antifungal and Synergistic Effects of an Ethyl Acetate Extract of the Edible Brown Seaweed *Eiseniabicyclis* against *Candida* Species. *Fisheries and Aquatic Sciences* 17: 209-214, 2014.
32. Kulkarni SJ, Maske KN, Budre MP, Mahajan RP. Extraction and Purification of curcuminoids from Turmeric (*Curcuma longa* L.). *Inter J Pharmacology & Pharmaceutical Technology* 1: 2277-3436, 2012.
33. Kumar A, Dora J, Singh A. A Review on Spice of Life *Curcuma longa* (Turmeric). *Inter J Applied Biology & Pharmaceutical Technology* 2: 371-379, 2011.
34. Menezes EA, Junior AAV, Cunha FA, Braz BHL, Silva CLF. Identificação Molecular e suscetibilidade antifúngica de *Candida parapsilosis* isoladas no Ceará, Brasil. *J Bras Patol Med Lab* 48: 415-420, 2012.
35. Moraes TMS, Araujo MH, Bernardes NR, Oliveira DB, Lasunskala EB, Muzitano MF, Cunha M. Antimycobacterial Activity and Alkaloid Prospecção of *Psychotria* Species (*Rubiaceae*) from the Brazilian Atlantic Rain forest. *Planta Med* 77: 964-970, 2010.
36. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*; Twelfth Informational Supplement M100-S12 22, 2002.
37. Naguetini CC. Caracterização Físico-Química e Atividade Antifúngica dos Óleos Essenciais da Cúrcuma. Belo Horizonte [Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos – Universidade Federal de Minas Gerais], 2006.
38. Naglik J, Chakkacombe S, Hube B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Am Soc Microbiol* 67: 400-428, 2003.
39. Peixoto JV, Rocha MG, Nascimento RTL, Moreira VV, Kashiwabara TGB. Candidíase – Uma Revisão de Literatura. *Braz J Surg Clin Res* 8: 75-82, 2014.
40. Prado RS, Alves RJ, Oliveira CMA, Kato L, Silva RA, Quintino GO, Cunha SD, Soares CMA, Pereira M. Inhibition of *Paracoccidioides lutzii* Pb01 Isocitrate Lyase by the Natural Compound Argentilactone and Its Semi-Synthetic Derivate. *Plosone* 99: 11-13, 2014.
41. Rath S, Ray P. Evaluation of Indigenious Plant Extracts on Pathogenic Fungi. *Asian J Exp Biol Sci* 3: 850-853, 2012
42. Rukayadi Y, Lee K, Lee M, Yong D, Hwang J. Synergistic Anticandidal Activity of Xanthorrhizol in Combination with Ketoconazole or Amphotericin B. *FEMS Yeast Res* 9: 1302-1311, 2009.
43. Savithamma N, Rao ML, Suhlulatha D. Screening of Medicinal Plants for Secondary Metabolites. *J Sci Res* 8: 579-584, 2011.

44. Sawant RS, Godghate AG. Qualitative Phytochemical Screening of Rhizomes of *Curcuma longa* Linn. *Intern J Science* 2: 2278-3687, 2012.
45. Seabra CL. Estudo de fatores de virulência de culturas mistas de *Candida albicans* e *Candida parapsilosis* após adesão a uma superfície abiótica. Bragal [Dissertação de Mestrado em Engenharia Biomédica – Universidade do Minho, Portugal], 2011.
46. Sheikh N, Jahagirdar V, Kothadia S, Nagoba B. Antifungal Drug Resistance in *Candida* Species. *European J Gen Med* 10: 254-258, 2013.
47. Sigrist MS, Pinheiro JB, Filho JA, Zucchi MI. Genetic Diversity of Turmeric Germplasm (*Curcuma longa*; *Zingiberaceae*) Identified by Microsatellite Markers. *Genetics & Molec Res* 10: 419-428, 2011.
48. Singh G, Singh OP, Maurya S. Chemical and biocidal investigations on essential oils of some Indian *Curcuma* species. *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials* 45: 75-81, 2002.
49. Sousa AL, Dias LP, Cardoso JR, Nascimento VLV. Bioatividade do Extrato Aquoso do Açafrão (*Curcuma longa*) Sobre o Crescimento Micelial de *Colletotrichum lindemuthianum*. Curitiba [Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal do Paraná], 2010.
50. Tavares SRC, Pereira VV, Penafort FOL, Lacerda GA. Influência da polaridade do solvente na extração de lapachol bruto. *Bioch Biotechn Reports* 2: 79-81, 2013.
51. Takeuchi AP. Caracterização Antimicrobiana de Componentes do Açafrão (*Curcuma longa*) e Elaboração de Filmes Ativos com Montmorilonita e Óleo Resina de Açafrão. Goiânia [Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal de Goiás], 2012.
52. Tintino SR, Guedes GMM, Cunha FAB, Santos KKA, Matias EFF, Braga MFB, Andrade JC, Souza E, Freitas MA, Costa JGM, Coutinho HDM. Evaluation of Antimicrobial Activity and Modulating the Ethanol and Hexane Extracts of *Costus arabicus*. *Bioscience Journal* 29: 732-738, 2013.
53. Trofa D, Gacser A, Nosanchuk J. *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. *Am Soc Microbiol* 21: 606-625, 2008.
54. William DW, Silva TS, Lewis MAO. *Candida* Biofilms and Oral Candidosis: Treatment and Prevention. *Periodontology* 55: 250-265, 2011.
55. Wongkaew P, Sinsiri W. Effectiveness of Ringworm Cassia and Turmeric Plant Extracts on Growth Inhibition against Some Important Plant Pathogenic Fungi. *Am J Plant Sciences* 5: 615-626, 2014.
56. Xie JL, Polvi EJ, Guturja TS. Elucidating Drug Resistance in Human Fungal Pathogens. *Future microbiology* 9: 523-542, 2014.