CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE DE FUNGOS ANEMÓFILOS OBTIDOS DE AMBIENTES INTERNOS CLIMATIZADOS ARTIFICIALMENTE

Belo, R. A. S.; Silva, A. C. A.; Guimarães, C. S. P.;Siqueira, F. S.; Arakawa, N. S.; Khouri, S.

Faculdade de Ciências da Saúde, Curso Biomedicina,
NUFABI (Núcleo de Estudos Farmacêuticos e Biomédicos),
Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), Avenida Shishima Hifumi 2911,
Urbanova, São José dos Campos - SP, Brasil, CEP 12244-000

ricardob@univap.br, acarlalmeida@yahoo.com.br, carolina@univap.br, fassiq@hotmail.com, nilton@univap.br, soniak@univap.br

Resumo – Em meados dos anos 70, houve uma mudança nos projetos de construção de edifícios, com tendência em construir prédios "hermeticamente" fechados. Porém, a redução drástica da captação do ar externo tornou-se responsável pelo aumento de poluentes internos. O presente estudo teve como objetivo realizar a caracterização da microbiota fúngica, contida no ambiente interior, climatizado artificialmente, bem como propor uma alternativa de controle dessa microbiota. Foram utilizados diferentes óleos essenciais avaliando seu efeito fungicida pela técnica de Pour-Plate e por aspersão de um pool fúngico com posterior volatilização do óleo. Os resultados demonstram atividade fungicida do óleo de Lemongrass a partir da concentração de 20% e de Cravo a partir de 40%, variando os halos de inibição entre 8 a 52 mm pela técnica de Pour-Plate e por aspersão uma redução de colônias de 96,57% com a aplicação do óleo de Lemongrass em 30%; 97,91% na concentração de 40%; 98,3% na concentração de 50% e 99,06% com óleo puro. Sendo assim, conclui-se que os óleos nas concentrações testadas, possuem efeito antifúngico sobre essa microbiota, demonstrando uma atividade promissora no controle destes ambientes.

Palavras chave: ambiente, óleo essencial, microbiota fúngica.
Área do Conhecimento: Ciências da saúde.

Introdução

A Síndrome do Edifício Doente refere-se à relação entre causa e efeito das condições ambientais observadas em áreas internas, com reduzida renovação de ar, e os vários níveis de agressão à saúde de seus ocupantes através de fontes poluentes de origens físicas, químicas e/ou microbiológica (INMETRO, 2008).

Tem sido observado que a má qualidade do ar de interiores desempenha importante papel na causalidade dos agravos a saúde. Seguramente, levando em conta esta constatação, a poluição do ar interior não se restringe apenas aos edifícios de escritórios (ZURAIMI et al., 2006), mas inclui ambientes não-industriais, como observado pelos estudos realizados em residências (ALMEIDA, 2004), escolas (RAMACHANDRAN et al., 2005), hospitais (LEUNG; CHAN, 2006), centros comerciais (COSTA; BRICKUS, 2000), meios de transportes (LAU; CHAN, 2003) e aeroportos (SILVEIRA et al., 2002).

Os principais fungos relacionados a problemas de qualidade de ar de ambientes internos são os bolores. A maioria das espécies de fungos é proveniente de ambientes externos onde habitam o solo e, ao lado de outros microrganismos, atuam na ciclagem dos materiais na natureza. Além dos esporos, fragmentos de micélio vegetativo ou outras estruturas fúngicas, podem também se constituir em elementos de disseminação dos fungos. Os elementos fúngicos que são encontrados no ar atmosférico são aeroalérgenos que, quando inalados, podem ser responsáveis por manifestações respiratórias alérgicas, como asma e rinite (BURGE et al, 1996).

Os tratamentos das infecções fúngicas não são sempre efetivos, pois a maioria dos fármacos antifúngicos disponíveis produz recorrência ou causam resistência, além de apresentarem importante toxicidade. Por esta razão, há uma busca contínua de novos fármacos antifúngicos mais potentes, mas, sobretudo, mais seguros que os existentes (FENNER et al., 2006). O estudo de produtos derivados de vegetais de uso medicinal com atividade antifúngica vem ganhando grandes perspectiva e objetiva obter princípios ativos para uma possível aplicação prática no tratamento de suas infecções (LIMA et al., 1999).

A localização dos óleos essenciais nas plantas varia de acordo com a família botânica a qual pertence, podendo ocorrer em estruturas secretoras especializadas, tais como pêlos ou tricomas glandulares (Lamiaceae), corpos

oleíferos (Apiaceae), bolsas lisígenas ou esquizolisígenas (Pinaceae, Rutaceae) ou células parenquimáticas diferenciadas (Lauraceae, Piperaceae e Poaceae), como é o caso do capim-limão (SIMÕES; SPITZER, 2000; LEWINSOHN et al., 1998).

O presente estudo teve como objetivo realizar a caracterização da microbiota fúngica, contida no ambiente interior, climatizado artificialmente, bem como propor uma alternativa de controle da microbiota fúngica isolada, utilizando-se óleos essenciais e avaliando seu efeito fungiostático e/ou fungicida.

Metodologia

O presente trabalho foi submetido ao Comitê de Ética da Universidade do Vale do Paraíba em Outubro de 2008 com parecer favorável em 19/11/2008 sob protocolo de nº. H286/CEP/2008.

O local estudado foi uma central de materiais de uma Universidade particular na região do Vale do Paraíba. Esta área é composta pelo setor de expurgo e área limpa climatizadas artificialmente.

Para a obtenção dos isolados, primeiramente foi analisada a freqüência da microbiota fúngica através da técnica de sedimentação, que consistiu em expor cinco placas de petri (150x15 mm) em pontos diferentes contendo Ágar Batata (OXOID®) nos setores de expurgo com área de 11,36 m^2 e na área limpa com área de 8,33 m^2 do local de estudo, com temperatura de 22℃ as 14h20m durante 15 minutos e posterior incubação a 25° C por cinco a sete dias. Decorrido o tempo estabelecido, estes foram isolados e identificados seguindo protocolo local.

Após a obtenção dos isolados e posterior crescimento das colônias foi realizada a técnica de microcultivo em lâmina, utilizando lactofenol azul de algodão como corante para identificação das espécies dos fungos. A identificação das espécies foi fundamentada na morfologia macroscópica das colônias e no estudo dos órgãos vegetativos e de frutificação do fungo cultivado pela técnica de microcultivo.

Os óleos essenciais utilizados para os testes de susceptibilidade, *in vitro*, foram adquiridos comercialmente. O óleo de Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) foi adquirido por Ferquima® Indústria e comércio Ltda. e Cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*) por Alanza®.

Para a avaliação dos testes antimicrobianos foi realizada a técnica de P*our-Plate*, que consistiu em pipetar 1 ml de um inóculo fúngico em placa de Petri (150x15 mm) de vidro estéril e em seguida, verter 80 mL de ágar batata (OXOID®) esteril a 45℃ e 50℃. Em seguida, foi realizado movimentos em "8", para completa homogeneização entre o inóculo e o meio. Após a solidificação do meio de cultura, foi feito orifícios no ágar com o auxílio de canudos de plástico estéreis (6 mm de diâmetro), seis poços equidistantes em volta da placa e um poço na região central para utilização do controle positivo. Em seguida, foi depositado 20 µl de óleo essencial em diferentes concentrações nos orifícios laterais, do controle negativo (óleo de amêndoa comercial) e do controle positivo (antifúngico comercial) no orifício central da placa. Em seguida as placas foram colocadas em temperatura ambiente por aproximadamente cinco a sete dias para posterior leitura dos halos de inibição. Os óleos essenciais utilizados foram de lemongrass (*Cymbopogon citratus*), cravo da índia (*Syzygium aromaticum*), melaleuca (*Melaleuca alternifolia)* e tomilho branco (*Thymus vulgaris*) diluídos em diferentes concentrações (10% a 100%).

A verificação da pureza dos óleos essenciais foi realizada em papel filtro. Com auxílio de um capilar colocou-se 1 gota do óleo em cada ponto, com isso, foi levado a estufa de secagem por 30 minutos. Após a secagem, foi realizada a leitura para ver a existência de resíduos nos óleos.

Foi realizado um teste de aplicação do óleo por volatilização em um ambiente interno. Para este teste, o fluxo laminar foi limpo e desinfectado. Fez-se um inóculo com os quatro fungos isolados do ambiente e aspergidos dentro do fluxo laminar com uma área de 0,73 m^2 e volume de 0,44 m^3, com auxílio de um borrifador, após a aspersão do inóculo realizou uma coleta da microbiota e ligou o aparelho por 35 minutos, foi realizada uma nova coleta e ao longo do dia com intervalos de aproximadamente 1 hora. Após as coletas as placas foram identificadas e incubadas por 7 dias a 25℃ para posterior leitura e determinação da porcentagem de redução nos tempos estabelecidos após a voatilização do óleo de *Cymbopogon citratus*.

Resultados

Após a técnica de sedimentação na central de materiais, cerca de 4 diferentes gêneros predominantes de fungos foram isolados obtendo macrocolônias em placas de petri (90x15 mm) contendo Ágar Batata (OXOID®) com posterior armazenamento em tubo com Ágar Batata inclinado para posterior caracterização.

Através da técnica de microcultivo foi identificado os quatro fungos conforme mostra a figura 1.

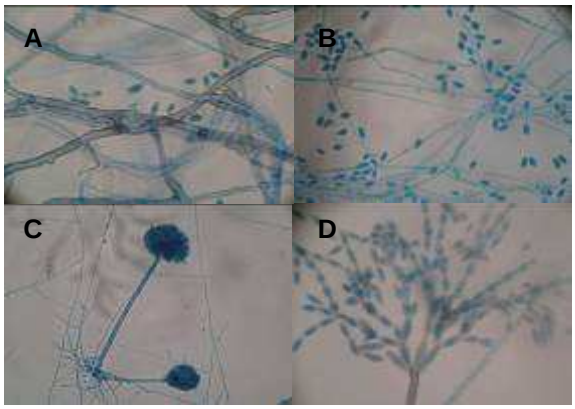

Fig. 1: Microcutivo em lâmina dos fungos isolados. (A) *Cladosporium sp* (Fungo 1); (B) *Fusarium solani* (Fungo 2); (C) *Aspergillus sp.* (Fungo 3); (D) *Cladophialophora carrionii* (Fungo 4);

Na técnica de *pour-plate*, realizada com os diferentes óleos essenciais, os resultados obtidos demostraram atividade fungicida para os óleos de lemongrass (*Cymbopogon citratus*), a partir da concentração de 20% e cravo da índia (*Syzygium aromaticum*), a partir de 40% variando os halos de inibição entre 8 e 52 mm de diâmetro como mostra as figuras 2, 3, 4 e 5.

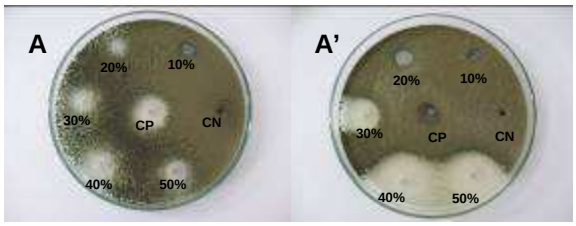

Fig. 2: Prova de susceptibilidade do *Cladosporium sp.* frente aos óleos. (A) Cravo da Índia (10% a 50%); (A') Lemongrass (10% a 50%);

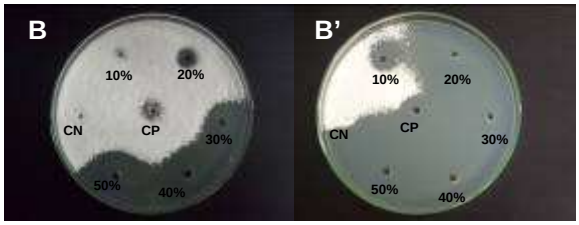

Fig. 3: Prova de susceptibilidade do *Fusarium solani* frente aos óleos. (B) Cravo da Índia (10% a 50%); (B') Lemongrass (10% a 50%);

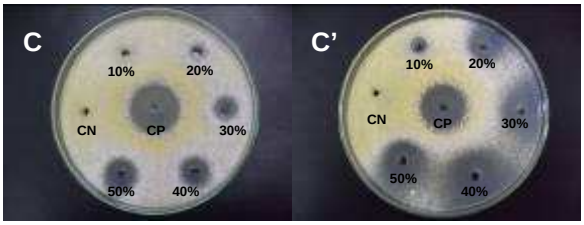

Fig. 4: Prova de susceptibilidade do *Aspergillus sp.* frente aos óleos. (C) Cravo da Índia (10% a 50%); (C') Lemongrass (10% a 50%);

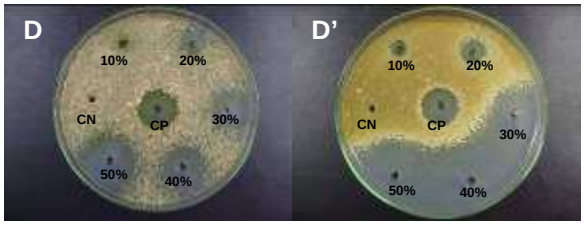

Fig. 5: Prova de susceptibilidade do *Cladophialophora carrionii* frente aos óleos. (D) Cravo da Índia (10% a 50%); (D') Lemongrass (10% a 50%);

As tabelas 1, 2, 3 e 4 mostram a variação do diâmetro dos halos (em mm), dos quatro gêneros de fungos isolados nas respectivas concentrações dos óleos de lemongrass e cravo bem como dos controles positivo e negativo.

Tabela 1: Variação do diâmetro dos halos nas respectivas concentrações dos óleos de Lemongrass e Cravo sob *Cladosporium spp*.

Cladosporium spp		
Concentração	**Halo de Inibição (mm) Lemongrass**	**Halo de Inibição (mm) Cravo**
10%	0	0
20%	12	Fungiostático
30%	21	12
40%	28	19
50%	30	24
C +	20	19
C -	0	0

C +: controle positivo a 1%
C -: controle negativo
Controle positivo: Nitrato de miconazol 20mg/ml

Tabela 2: Variação do diâmetro dos halos nas respectivas concentrações dos óleos de Lemongrass e Cravo sob *Fusarium solani*.

Fusarium solani		
Concentração	**Halo de Inibição (mm) Lemongrass**	**Halo de Inibição (mm) Cravo**
10%	15	0
20%	Total	12
30%	Total	27
40%	Total	33
50%	Total	36
C +	17	18
C -	0	0

C +: controle positivo a 1%
C -: controle negativo
Controle positivo: Nitrato de miconazol 20mg/ml

Tabela 3: Variação do diâmetro dos halos nas respectivas concentrações dos óleos de Lemongrass e Cravo sob *Aspergillus spp*.

Aspergillus spp.		
Concentração	**Halo de Inibição (mm) Lemongrass**	**Halo de Inibição (mm) Cravo**
10%	11	0
20%	18	0
30%	24	Fungiostático
40%	26	13
50%	28	16
C +	25	25
C -	0	0

C +: controle positivo a 10%
C -: controle negativo
Controle positivo: Nitrato de miconazol 20mg/ml

Tabela 4: Variação do diâmetro dos halos nas respectivas concentrações dos óleos de Lemongrass e Cravo sob *Cladophialophora carrionii*.

Cladophialophora carrionii		
Concentração	**Halo de Inibição (mm) Lemongrass**	**Halo de Inibição (mm) Cravo**
10%	11	0
20%	18	0
30%	24	Fungiostático
40%	26	13
50%	28	16
C +	25	25
C -	0	0

C +: controle positivo a 10%
C -: controle negativo
Controle positivo: Nitrato de miconazol 20mg/ml

Na técnica de aplicação do óleo Lemongrass por volatilização no ambiente, observou-se o potencial antifúngico do óleo, onde se obteve uma redução de colônias de 96,57% com a aplicação do óleo na concentração de 30%; 97,91% na concentração de 40%; 98,3% na concentração de 50% e 99,06% com óleo puro, conforme mostra a tabela 5, sendo o óleo essencial que apresentou melhor atividade antifúngica "in vitro", conforme mostra as tabelas de 1 a 4.

Tabela 5: Média de UFC/ponto e porcentagem de redução nos diferentes tempos com aplicação do óleo de Lemongrass

	Lemongrass			
	30%	**40%**	**50%**	**Puro**
∑ UFC tempo inicial	180,8	247,2	218,2	141,8
∑ UFC tempo final	6,2	5,16	3,7	1,33
% de redução UFC	96,57%	97,91%	98,3%	99,06%

Tempo inicial: 0h
Tempo final: 6h

Discussão

Os fungos ambientais apresentam amplas variações em sua incidência, de acordo com clima, temperatura, umidade relativa do ar, hora do dia, presença de atividade humana e tipo de climatização de ambientes internos. O ambiente estudado é um ambiente com pouca atividade humana, climatizado artificialmente com sistema de ar condicionado tipo split parede com vazão de ar de 430 m^3/h, recebe um grande volume de material proveniente dos diferentes setores de análises clínicas, onde o mesmo passa pelo expurgo sendo o mesmo descontaminado e depois enviado para a área limpa para posterior esterilização. Ambos os ambientes permanecem climatizados com temperatura por volta de 21℃ na presença de atividade humana.

O número de estudos que abordam o tema no Brasil é escasso, assim existem poucos relatos sobre microbiota anemófila em ambientes internos, climatizados artificialmente. No presente estudo, foram isolados 4 gêneros diferentes no ambiente analisado: *Cladosporium sp*; *Fusarium solani*; *Aspergillus sp*; *Cladophialophora carrionii*; com coletas realizadas no período da manhã e tarde com temperatura variando entre 21℃ e 23℃. Em estudo realizado por Diniz e et al, 2005 foi avaliada a microbiota fúngica em unidade hospitalar, onde os gêneros mais frequentemente isolados também foram *Cladophialophora spp., Fusarium spp., Penicillium spp e Aspergillus spp,* estando condizente com a microbiota encontrada neste estudo.

Alguns estudos sugerem que a distribuição de fungos de um determinado ambiente pode variar quanto à área geográfica e por fatores ambientais. Há também uma escassez de dados relacionados ao controle desta microbiota, proveniente de ambientes internos climatizados artificialmente.

A partir dos conhecimentos tradicionais do uso de plantas medicinais, na busca de soluções no tratamento de doenças infecciosas, surgiu o interesse comercial e científico na perspectiva de

obtenção de produtos naturais com propriedades antimicrobianas.

Segundo Chaucasia e Yvas (1977), aproximadamente, 60% dos óleos essenciais possuem propriedades antifúngicas e 35% exibem atividade antibacteriana. Sendo assim, muitas pesquisas estão sendo desenvolvidas com microrganismos incluindo fungos e bactérias, para obtenção de novos fármacos a partir de substâncias naturais por serem importante fonte de de produtos naturais biologicamente ativos, os quais revelam ampla diversidade em termos de estrutura e de propriedades físico-químicas e biológicas. Pesquisas demonstraram que medicamentos originados de plantas medicinais são desenvolvidos em menor tempo, com custos, muitas vezes, inferiores aos obtidos sinteticamente (YUNES, R.A. et al,2001; MACIEL, M.A.M. et al, 2002; SIMÕES, C.M.O., SCHENKEL, E.P., 2002; CARVALHO, A.C.B. et al, 2008).

Neste estudo, os óleos essenciais que apresentaram atividade antifúngica foram o óleo de Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) a partir da concentração de 20% e Cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*) a partir de 40%, variando os halos de inibição entre 8 a 52 mm pela técnica de Pour-Plate, *in vitro*, e pela técnica de aspersão do pool fúngico observou-se uma redução do crescimento de colônias fúngicas de 96,57% com a aplicação do óleo de Lemongrass em 30%, 97,91% com concentração de 40%, 98,3% com concentração de 50% e 99,06% com óleo puro. A atividade atribuida a estes óleos essenciais sobre outros microrganismos patógenos tem sido relatado na literatura (SILVA, C.B., et al, 2008; PEREIRA, A.A., et al, 2008; HELAL, G.A., et al, 2006; SCHUCK, V.J.A. et al, 2001; HEYDER, C.D.T. e Silva, DAK, 2009;).

Estes resultados confirmam a ação efetiva do citral e do eugenol sobre os fungos testados, assim como denotam a existência de ação inibitória superior do óleo Lemongrass volatilizado no ambiente em relação aos testes realizados pela técnica de P*our-Plate*. Outros constituintes no óleo são capazes de potencializar a ação inibitória do citral. Onawunmi *et al*. (1984) observaram que o mirceno, presente em menores concentrações no óleo volátil, potencializava a ação antibacteriana do citral, o que condiz com o teste realizado de volatilização do óleo de Lemongrass com ação antifúngica na microbiota do ambiente.

O óleo de Lemongrass, na concentração de 20% foi ativo sobre 100% das cepas de todos fungos isolados. Entre os óleos essenciais, este foi o que apresentou maior atividade antifúngica, justificando seu uso na técnica de volatilização no ambiente.

Conclusão

A microbiota fúngica do ambiente analizado apresentou quatro diferentes gêneros de importância médica, correlacionados em casos de infecções hospitalares, contaminação de ambientes fechados hermeticamente, acervos bibliográficos, ambientes de alimentos industrializados entre outros. O monitoramento de fontes ambientais deve ser realizado, principalmente em salas especiais onde seus ocupantes podem estar expostos a fungos potencialmente patogênicos.

Através do controle fúngico , utilizando-se óleos essenciais, pode-se observar o potencial antifúngico do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* e *Caryophilus aromaticus*. Sendo assim, conclui-se que os óleos nas concentrações testadas, possuem ação antifúngica sobre os fungos anemófilos, isolados de ambiente interno climatizado artificialmente, demonstrando uma alternativa promissora no controle da microbiota fúngica destes ambientes, principalmente o óleo de *Cymbopogon citratus,* apresentando uma porcentagem de redução de 96,57% com a aplicação do óleo na menor concentração testada (30%) .

Referências

- ALMEIDA, S. M. Mapeamento da qualidade do ar de interiores de residências no Estado do Rio de Janeiro. 2004. 150p. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Escola Nacional de Saúde Pública. RJ.

- BURGE, H.A.; LEVETIN, E.; MUILENBERG, M.L.; SOLOMON, W.R. Fungus spore identification. **American Academy of Allergy Asthma Immunology**; 1996. p.3-22.

- CARVALHO, A.C.B.; BALBINO, E.E.; MACIEL, A.; PERFEITO, J.P.S. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Rev. Bras. de Farmacog**.V.18, n.2, p.314-319, 2008.

- COSTA, M. F. B.; BRICKUS, L. S. R. The effect of ventilation systems on prevalence of symptoms associated with sick buildings in brazilian commercial establishments. **Archives of Environmental Health**, v.55, p.279-83, 2000.

- DINIZ, J.N.; SILVA, R.A.M.; MIRANDA, E.T; MENDES, M.J.S. Monitoramento de fungos anemófilos e de leveduras em unidade hospitalar. **Rev. Saúde Púb**. 2005, vol.39, n.3, pp. 398-405.

- FENNER, R.; BETTI, A.H.; MENTZ, L.A.; RATES, S.M.K. Plantas utilizadas na medicina popular

brasileira com potencial atividade antifúngica. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.42, n.3, p. 369-394, 2006.

- GAYOSO, C.W. Sensitivity of fungi isolates from onychomycosis to *Eugenia cariophyllata* essential oil and eugenol. **Fitoterapia, João Pessoa**, v.76, p.247-249, 2005.

- HEYDER, C.; SILVA, D. Avaliação da atividade antifúngica do óleo volátil de Cymbopogon citratus sobre Candida krusei e Candida parapsilosis. **Rev**. **Saúde. e Amb.**, América do Norte, 526 05 2009.

- HELAL, G.A.; SARHAN, M.M.; ABU, S.A.N.; ABOU, E.E.K. Effect of Cymbopogon citratus L. essential oil on growth and morphogenesis of Saccharomyces cerevisiae ML2-strain. **Ciênc. agrotec., Lavras,** v. 32, n. 3, p. 887-893, 2008.

- INMETRO. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/qualidadedoAr.asp. Acesso em: 21/09/2008

- LAU, W. L.; CHAN, L. Y. Commuter exposure to aromatic VOCs in public transportation modes in Hong Kong. **Science of the Total Environment**, v.308, p.143-55, 2003.

- LEUNG, M.; CHAN, A. H. S. Control and management of hospital indoor air quality. **Medical Science Monitor**, v.12, p.17-23, 2006.

- LEWINSOHN, E.; DUDAI, N.; TADMOR, Y.; KATZIR, I.; RAVID, U.; PUTIEVSKY, E., JOEL, D.M. Histochemical localization of citral accumulation in lemongrass leaves (Cymbopogon citratus (DC) Stapf., Poaceae). **Annals of Botany,** v.81, p.35-39, 1998.

- LIMA, E.O.; FARIAS, N.M. P. Atividade antifúngica de óleos essenciais, obtidos de plantas medicinais, contra leveduras do gênero Candida. **Rev. Bras. Ciênc. Saúde**;3(1/3):51-64, 1999.

- Matouschek B.V., Stahl-Biskup E. 1991. Phytochemische untersuchung der nichflüchtigen inhaltsstoffe von Cymbopogon citratus (DC.) Stapf (Poaceae). Pharm Acta Helv.

- MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Rev. Brasil. Bot**., v.26, n.2, p.231-238, 2003.

- OLANIYI, A.A., SOFOWORA, E.A. 1975. Phytochemical investigation of some Nigerian plants used against fevers. II. Cymbopogon citratus. **Planta Med**.28: 186-189.

- ONAWUNMI, G.O.; YISAK, W-AB. Antibacterial constituents in the essencial oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. ***J. Ethnopharmacol*** **Lausanne**, v.12, n. 3, p. 279-286, 1984.

- PEREIRA, A.A. et al. Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. ***Ciênc. agrotec***. 2008, vol.32, n.3, pp. 887-893.

- PEREIRA, C.A.M. Estudo da atividade antioxidante do extrato e do óleo essencial obtidos das folhas de alfavaca (Ocimum gratissimum L.). **Ciênc. e Tec. de Alim**., 27(3): p.624-632, 2007.

- RAMACHANDRAN, G. et al. Indoor air quality in two urban elementary schools. **Journal Occupa. Environmental Hygiene**, v.2 p.553-6, 2005.

- SCHUCK, V.J.A.; FRATINI, M.; RAUBER C.S, HENRIQUES, A.; SCHAPOVAL, E.S. Avaliação da atividade antimicrobiana de Cymbopogon citratus. **Rev. Bras. Ci. Farm**. 2001;37: 45-9.

- SILVA, C.B.; GUTERRES, S.S.; WEISHEIMER, V.; SCHAPOVAL, E.E.S. Antifungal activity of the lemongrass oil and citral against Candida spp.. **Braz J Infect Dis**. 2008, vol.12, n.1, pp. 63-66.

- SILVEIRA, M. G. et al. Concentração de fungos no ar em um terminal aeroportuário na cidade do RJ. **Rev. Bras. de S. Ocup**. v.27, p.111- 20, 2002.

- SIMÕES, C.M.O., SCHENKEL, E.P. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. **Rev. Bras. Farmacog**., V.12, n.1,p.35-40, 2002.

- SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**.2 ed.UFRGS/Ed. UFSC, 2000. p.387-416.

- SOUSA, M.P. et al.1991. Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras. Fortaleza: Editora da UFC.

- YUNES, R.A.; PEDROSA, R.C; CECHINEL F.V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Quím. Nova**. 2001, vol.24, n.1, pp. 147-152.

- ZURAIMI, M.S. et al. A comparative study of VOCs in Singapore and European office buildings. **Building and Environment,** v.41, p.313-29, 2006.