

Universidade Evangélica de Goiás – UniEVANGÉLICA
Curso de Medicina

ATIVIDADE ANTI-Candida DO EXTRATO ETANÓLICO DE
Libidibia ferrea

Anna Luísa Barbosa Fernandes

Gil Guimarães Barbosa Trivelli

Júlia de Abreu Monteiro

Marina Ramos Ribeiro

Pedro Tomaz Esper

Anápolis, Goiás

2021

Universidade Evangélica de Goiás – UniEVANGÉLICA
Curso de Medicina

ATIVIDADE ANTI-Candida DO EXTRATO ETANÓLICO DE
Libidibia ferrea

Trabalho de curso disciplina de Iniciação Científica do curso de medicina da Universidade Evangélica de Goiás -UniEVANGÉLICA, sob a orientação do Prof. Dr. Humberto de Sousa Fontoura e coorientado pela Prof.^a Dr.^a. Renata Silva do Prado.

Anápolis, Goiás

2021

ENTREGA DA
VERSÃO FINAL DO
TRABALHO DE
CURSO

PARECER FAVORÁVEL DO ORIENTADOR

À **Coordenação** **de** **Iniciação** **Científica**
Faculdade de Medicina–UniEvangélica Eu, Prof. Orientador Humberto de Sousa Fontoura venho, respeitosa-mente, informar a essa Coordenação, que os(as) acadêmicos(as) Anna Luísa Barbosa Fernandes, Gil Guimarães Barbosa Trivelli, Júlia de Abreu Monteiro, Marina Ramos Ribeiro e Pedro Tomaz Esper, estão com a versão final do trabalho intitulado *ATIVIDADE ANTI-Candida DO EXTRATO ETANÓLICO de Libidibia ferrea* pronta para ser entregue a esta coordenação.

Declara-se ciência quanto a publicação do referido trabalho, no Repositório Institucional da UniEVANGÉLICA.

1. Observações:

Anápolis, 18deOutubrode2021.



Professor(a)Orientador(a)

Resumo

Dentre as infecções fúngicas que acometem seres humanos, a candidíase apresenta muita relevância, tendo a *Candida albicans* como o agente etiológico mais comum. Porém, *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis* também têm emergido como causadoras de candidíase. Nativa da mata atlântica brasileira, a *Libidibia ferrea* é uma planta que tem sido estudada por sua capacidade de controle microbiológico. Portanto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antifúngica de *L. ferrea* sobre *C. parapsilosis*, *C. albicans* e *C. tropicalis*. A capacidade antifúngica dos extratos etanólicos de *L. ferrea* foi analisada por meio do método de macrodiluição seriada, no qual identificou-se inibição na concentração máxima testada, a partir de 1,3% de rendimento do extrato. O teste de sensibilidade em placas mostrou inibição do crescimento de *C. albicans* e *C. tropicalis* na maior concentração testada, enquanto a inibição de *C. parapsilosis* foi observada de maneira dose-dependente a partir de 0,5mg/mL do extrato etanólico de *L. ferrea*. A capacidade antifúngica também foi avaliada por meio dos discos de difusão, dos quais não se observou inibição do crescimento de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* em nenhuma das concentrações realizadas. Além disso, foi realizado o teste de sinergismo entre o extrato e antifúngicos utilizados, observando ação sinérgica do extrato com fluconazol sobre as placas contendo *C. parapsilosis*, mas sem alterações sinérgicas ou antagônicas sob as demais espécies.

Palavras-chave: *Candida* spp; Candidíase; *Libidibia ferrea*; Plantas medicinais.

Abstract

Candidiasis among the fungal infections that affect humans presents, with *Candida albicans* as the most common etiologic agent, however *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis* have emerged as causes of candidiasis episodes. Native to the Brazilian Atlantic Forest, a *Libidibia ferrea*, is a plant that has been studied for its microbiological control capacity. The present work aims to evaluate an antifungal activity of *L. ferrea* on *C. parapsilosis*, *C. albicans* and *C. tropicalis*. The evaluation of the antifungal capacity of the ethanolic extracts of *L. ferrea* was done using the method of serial macrodilution, and inhibition was identified in the maximum concentration tested, from 1.3% of the extract yield, according to the sensitivity test in plates. The antifungal capacity will be assessed using the broth dilution test and the diffusion disc method. In addition, an analysis of the synergism between the extract and antifungals traditionally used will be carried out. Thus, it is expected that the ethanolic extract of *L. ferrea* will inhibit the growth of *Candida* ssp cells, thus generating a candidate for antifungal in association with conventional treatment or in monotherapy.

Keywords: *Candida* ssp; Candidiasis; *Libidibia ferrea*; Medicinal plants.

SUMÁRIO

Resumo.....	4
Abstract	5
1. INTRODUÇÃO	7
2. OBJETIVOS	9
2.1 Objetivo geral.....	9
2.2 Objetivos específicos	9
3. REFERENCIAL TEÓRICO	10
3.1 Candidíase.....	10
4. METODOLOGIA	19
4.1 Tipo de estudo	19
4.2 Coleta do material vegetal.....	19
4.3 Obtenção dos extratos de <i>L. ferrea</i>	19
4.4 Cultivo e manutenção do fungo	23
4.5 Teste de sensibilidade em placas.....	23
4.6 Teste de sinergismo.....	23
4.7 Teste de sensibilidade por disco de difusão	23
5. RESULTADOS.....	24
5.1 Rendimento do extrato	24
5.2 Teste em sensibilidade de placas.....	24
5.3 Teste de sensibilidade por disco de infusao	25
5.4 Teste de sinergismo	28
6. DISCUSSÃO.....	30
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	32
8. REFERÊNCIAS.....	33

1. INTRODUÇÃO

A candidíase é uma infecção fúngica oportunista causada por fungos do gênero *Candida* que pode se apresentar localizada ou sistêmica. Consiste em uma extensa variedade de síndromes clínicas, ocasionadas por, aproximadamente, 200 espécies diferentes de leveduras, que vivem normalmente nos mais diversos nichos corporais (SILVA *et al.*,2019).

O gênero *Candida* tem como características espécies com aspecto morfológico leveduriforme, unicelulares, com parede fina e ovoides que, em grande parte das espécies, forma pseudo-hifas e hifas e são capazes de se reproduzir por meio de brotamento, seu aglomerado forma colônias, que possuem como características macroscópicas uma coloração branca a creme e uma superfície lisa ou rugosa (LOPES, 2018).

Várias espécies de *Candida* são caracterizadas como colonizadoras, desta forma, não são capazes de causar infecções a não ser que haja um desequilíbrio no sistema imune ou fatores externos, como os antimicrobianos, que podem alterar a microbiota normal (CAMPOS *et al.*,2019). Portanto, a candidíase está extremamente relacionada com a resposta imunológica do paciente. A *Candida albicans* é a espécie que causa a maior quantidade de infecções superficiais e invasivas no ser humano e em diversas topografias anatômicas. Porém, outras espécies também estão associadas com essas infecções, bem como: *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, entre outras (COLOMBO *et al*, 2003). As manifestações clínicas também variam, podendo apresentar-se na forma mucocutânea, cutânea a e sistêmica (LOPES, 2018).

A candidíase atualmente tem se tornado uma doença cada vez mais prevalente. A cada 10 mil pacientes internados em hospitais com alto risco, cerca de 5 a 10 desenvolverão candidíase, sendo que de 35 a 50% dos pacientes podem chegar a óbito (VERONESI, 2015). Devido a sua grande diversidade de espécies aproximada de duzentas, os indivíduos estão consideravelmente suscetíveis a apresentar infecções fúngicas, com destaque a *C. albicans* (COLOMBO *et al*, 2003). Entretanto, diante do cenário atual, devido ao uso recorrente de terapia antifúngica profilática, empírica e preventiva essa espécie tem se tornado mais resistente abrindo espaço para outras espécies como a *C. parapsilosis*, e a *C. tropicalis* (VERONESI, 2015).

A farmacologia convencional para o tratamento de *Candida spp.* é a Anfotericina B, que é altamente eficaz para qualquer espécie desse grupo. Contudo, esse fármaco apresenta muitos efeitos colaterais no ser humano, como hepatotoxicidade, nefrotoxicidade e mesmo a flebite, no local de aplicação. Sendo assim, caso esses efeitos não consigam ser tolerados pelos pacientes, tem-se uma segunda opção de tratamento, que seria a Fluconazol, medicamento que apresenta menor toxicidade, mas que também apresenta menor eficácia (GOLAN, 2009). Verificou-se uma acelerada seleção de indivíduos resistentes do gênero *Candida* a esse

fármaco, devido à capacidade mutagênica da proteína p450, além disso, a interação medicamentosa do Fluconazol pode levar a grandes prejuízos. (GOLAN, 2009).

Diante do exposto, é possível perceber a necessidade crescente da busca por novos fármacos ou candidatos a fármacos no combate as infecções causadas por representantes do gênero *Candida*, que o façam de forma mais efetiva e menos tóxica. Vários estudos já vêm sendo realizados nesse sentido, com agentes naturais que demonstraram capacidade antifúngica, como *Aloe vera*, *Calendula officinalis*, *Curcuma longa*, *Zingiber officinale*, *Dioscorea bulbifera*, *Apis melífera*, *Arctium lappa L.*, *Stryphnodendron adstringens*, *Coville eTabebuia avellanadae*, e *Lorentz ex griseb*, entre outros (GAZIM *et al.*, 2007).

Nesse interim, *L. ferrea*, popularmente conhecida como Jucá ou pau-ferro, pertence a uma das maiores famílias botânicas, as *Fabaceae*, adquiriu relevância. É uma planta bastante utilizada na medicina popular devido aos seus frutos que possuem ação contra diabetes e anemia, além da atividade anticancerígena (CAVALHEIRO *et al.*, 2009). Possuem flavonoides que conferem características anti-inflamatórias, os taninos com ação antisséptica e cicatrizante, e as cumarinas que são as principais responsáveis pela ação antibacteriana e antifúngica (PEREIRA *et al.*, 2006).

Desta forma, diante do aumento de pacientes imunocomprometidos e o aparecimento de isolados resistentes e multirresistentes que tornam os fármacos cada vez mais ineficazes contra o agente causador, somado a alta toxicidade dos antifúngicos existentes e das diversas reações adversas que esses fármacos podem causar é de extrema importância à busca por novas terapias eficazes e menos tóxicas contra as diversas espécies do gênero *Candida*.

Sendo assim, esse estudo avaliou se o extrato etanólico de *L. férrea* possui atividade antiproliferativa contra células de *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar se o extrato etanólico de *L. Férrrea* possui atividade antiproliferativa contra células de *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*.

2.2 Objetivos específicos

- Obter o extrato etanólico de *L. ferrea*;
- Fracionar o extrato bruto da *L. ferrea* obtido;
- Avaliar a influenciada *L. ferrea* contra células de *C. albicans*
- Avaliar a influenciada *L. ferrea* contra células de *C. parapsilosis*
- Avaliar a influência da *L. ferrea* contra células de *C. tropicalis*
- Identificar a atividade sinérgica/antagônica do extrato da *L. ferrea* com drogas tradicionalmente utilizadas

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Candidíase

A candidíase é uma infecção fúngica oportunista que pode se apresentar localizada estando presente na microbiota normal da pele, do trato gastrointestinal e geniturinário, ou também se desenvolver sistemicamente, podendo ser considerada de acordo com sua origem como endógena, quando oriunda da microbiota ou exógena como no caso das infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) (DE PAULA BARROS, 2018). Consiste em uma extensa variedade de síndromes clínicas causadas por fungos do gênero *Candida*, constituído de aproximadamente 200 espécies diferentes de leveduras, que vivem normalmente nos mais diversos nichos corporais (SILVA *et al.*, 2019).

O gênero *Candida* tem como características morfológicas seres leveduriformes, unicelulares, medindo aproximadamente de 2 a 6µm de paredes finas e ovoides que em grande parte das espécies forma pseudo-hifas e hifas, seu aglomerado forma colônias, que possuem como características uma coloração branca a creme e uma superfície lisa ou rugosa (LOPES, 2018).

Várias espécies de *Candida* são caracterizadas como colonizadores, desta forma, não são capazes de causar infecções a não ser que haja um desequilíbrio no sistema imune ou fatores externos, como os antimicrobianos, que podem alterar a microbiota normal do indivíduo (CAMPOS *et al.*, 2019). Portanto, a candidíase está extremamente relacionada com a resposta imunológica do paciente.

Desta forma, por ser uma infecção oportunista que se aproveita da deficiência do sistema imunológico, vários indivíduos se enquadram no grupo de alto risco, dentre eles: indivíduos com neoplasia hematológica, neutropenia, usuários prévios de agentes citotóxicos e corticosteroides, já dentre os pacientes internados nas unidades de terapia intensiva (UTI), o uso de antimicrobianos de amplo espectro, cateteres intravenosos e ureterais, procedimentos cirúrgicos prévios, insuficiência renal e nutrição parenteral podem agravar muito o risco de infecção por *Candida* (VIANA *et al.*, 2019).

A infecção por *Candida* acomete, preferencialmente, os extremos etários sendo eles, as crianças e as pessoas mais idosas, em uma taxa de 5% dos recém-nascidos e 10% dos pacientes idosos com saúde prejudicada. Além dos extremos etários outro grupo que se tornou bastante prejudicado com o avanço da candidíase foi o das pessoas com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), visto que o sistema imune já se apresenta deficitário, contribuindo para infecção gerada pelo microrganismo (GOULART *et al.*, 2018).

As manifestações clínicas presentes em indivíduos que foram infectados por fungos do gênero *Candida* podem ser divididas em basicamente três tipos: mucocutânea, cutânea e sistêmica. A candidíase mucocutânea acomete a cavidade oral e o canal vaginal, além de ser considerada a forma mais comum dentre os seres humanos, esse tipo de manifestação é pioneira em pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) principalmente com o aparecimento da candidíase orofaríngea (DE ALMEIDA FREIRE *et al.*, 2019). A candidíase cutânea acomete principalmente áreas úmidas do corpo como: espaços interdigitais, regiões das mamas, axilas, pregas das virilhas e debaixo de unhas. A forma disseminada da candidíase é rara e considerada a mais perigosa delas podendo ser fatal, ocorre em pacientes terminais com doenças debilitantes, neoplásicas, doenças imunossupressoras, podendo acometer diferentes órgãos como: pulmões, meninges, rins, bexiga, articulações, fígado, coração e olhos (LOPES, 2018).

3.1.1. Candida albicans; Candida parapsilosis; Candida tropicalis

O reino *Fungi* possui 6 filos, dos quais quatro são de importância médica: *Basidiomycota*, *Ascomycota*, *Zygomycota* e *Deuteromycota*. Geralmente, os fungos de importância médica apresentam dimorfismo e pertencem ao filo *Deuteromycota*. Dessa forma, dentro da divisão *Deuteromycota*, subdivisão *Deuteromycotina*, classe *Deuteromycetes*, ordem *Críptococcales*, família *Críptococaceae*, encontra-se os fungos do gênero *Candida* que, englobam aproximadamente duzentas espécies, entre elas: *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* (TRABULSI, 1996).

Os fungos são seres vivos eucariontes, heterotróficos e que podem ser saprófitos e oportunistas. São majoritariamente, aeróbios obrigatórios. Apresentam parede celular composta por quitina, complexos polissacarídeos e proteínas. Alguns fungos armazenam glicogênio (TRABULSI, 1996).

Os fungos possuem variadas formas físicas de apresentação, podendo ser: leveduras (possuindo somente um núcleo, de consistência pastosa e permanente em forma vegetativa), e bolores (filamentos multicelulares em forma de tubo). Tais filamentos são chamados de hifas e, o conjunto dessas, micélio (TRABULSI, 1996).

A maioria dos fungos apresenta reprodução assexuada da expansão do micélio por meio de brotamento, gemulação ou fissão binária. Tais fungos são constituídos por hifas septadas que se multiplicam apenas por esporos assexuais chamados conídios, dos quais se observou reprodução sexuada (JAWETZ *et al.*, 1988).

As características morfológicas específicas bem como os fatores de virulência dos fungos *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*, estes dois últimos denominados Candida Não-albicans (NCAC) ainda não estão totalmente esclarecidas, porém, características morfológicas, epidemiológicas, bioquímicas e patogênicas já conseguem diferenciá-los e conferi-los as suas características particulares (SILVA *et al.*, 2011).

A morfologia da *C. albicans* é considerada polimórfica, uma vez que consegue apresentar-se por hifas (estruturas delimitadas por septos estruturais do fungo) e/ou pseudo-hifas (estrutura que tem aspecto de hifa, mas não é verdadeiramente septada) (SILVA *et al.*, 2011). Essa habilidade não está presente, por exemplo, nas Candida não-albicans (NCAC) em questão, uma vez que a *C. parapsilosis* produz somente pseudo-hifas de aspecto curvado e muito grande, sendo denominada de “célula-gigante”, enquanto *C. tropicalis* produzem blastoporos ovais, comprovadamente. Porém, ainda existem estudos inconclusivos no que diz respeito à produção de hifas ou pseudo-hifas por parte da *C. tropicalis* (SILVA *et al.*, 2011).

A bioquímica constituinte desse grupo de *Candida* também é um pouco distinta. Nesse aspecto, esses fungos, paradoxalmente, aproximam-se e distanciam-se no que tange a fermentação e assimilação de açúcares. Enquanto *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* fermentam açúcares como a sacarose, a *C. albicans* assim não o faz, mesmo tendo alta capacidade de fermentação e assimilação de diversos açúcares. Porém, *C. parapsilosis* não fermenta maltose, enquanto *C. albicans* e *C. tropicalis* já possuem essa capacidade (SILVA *et al.*, 2011).

A patogenicidade dos fungos é mais bem esclarecida sob análise dos fatores de virulência, representados pelos elementos do fungo que interagem com as células de defesa do hospedeiro (DEORUKHKAR *et al.*, 2014). Os elementos potencialmente estudados incluem, principalmente, a forma de adesão realizada por cada fungo, uma vez que este evento é o que mais sustenta a persistência desse microrganismo no hospedeiro, além de ter a capacidade de formação de biofilmes nos equipamentos hospitalares, evento de significativa importância clínica (SILVA *et al.*, 2011).

A garantia da adesão depende de alguns fatores, dentre os principais a presença de proteínas da parede da célula, denominadas adesinas, e propriedades físico-químicas da superfície celular (SILVA *et al.*, 2011). Tais proteínas são codificadas por alguns genes, que se diferem em cada espécie de *Candida* em análise, conferindo, portanto, um padrão minuciosamente distinto. Em *C. albicans*, as adesinas são, majoritariamente, codificadas pelo ELA (gene de sequência semelhante à aglutinina). Alguns estudos de bioinformática sugeriram que, outros genes estão presentes em *C. parapsilosis*, capazes de codificar cinco proteínas

Acetolactato Sintases (ALS) e seis para Proteína Ancorada em Glicosilfosfatidilinositol (PGA 30) (SILVA *et al.*, 2011).

A patogenicidade da *C. tropicalis* se difere consideravelmente no padrão de identificação, feito pela análise de *Western blot* com anticorpos anti-ALS (Inibidores das Acetolactato Sintases). Desse modo, foram identificadas outras três proteínas de superfície, porém, não há estudos complementares que garantem uma identificação certa dessas proteínas (SILVA *et al.*, 2011).

3.1.2. Epidemiologia

A epidemiologia da candidíase mostra que para cada 10 mil pacientes internados de alto risco, 5 a 10 desenvolverão candidíase. Esses dados representam de 8 a 10% das infecções hospitalares de corrente sanguínea, dos quais, em torno de 35 a 50% dos pacientes chegarão ao óbito (VERONESI, 2015).

A *Candida albicans* é a espécie que causa a maior quantidade de infecções superficiais e invasivas no ser humano. No entanto, outras espécies também podem causar infecções, porém com uma taxa menor, dentre elas estão: *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida lusitanae* e *Candida guilliermondii* (COLOMBO *et al.*, 2003)

A maioria dos casos de candidíase é causada pela *C. albicans* representando cerca de 50 a 70% dos casos de doença invasiva. Nas últimas duas décadas ocorreu uma tendência de mudança para o aumento do número de casos de candidíase causada por espécies não albicans, em especial: a *C. parapsilosis*, e a *C. tropicalis* (VERONESI, 2015).

A mudança desse cenário se embasa no aumento da sobrevida de pacientes gravemente doentes e com doenças imunossupressoras, além de uso recorrente de terapia antifúngica profilática, empírica e preventiva. A distribuição da frequência de ocorrência das espécies de *Candida* causadores de candidíase varia em cada país/continente e suas características regionais, principalmente relacionadas com a eficiência dos cuidados oferecidos aos pacientes nos hospitais. A candidíase é uma infecção associada aos cuidados à saúde de pacientes hospitalizados (VERONESI, 2015).

A epidemiologia evidencia *C. albicans* com uma alta incidência e prevalência nas infecções nosocomiais em pontas de cateter e contaminações de materiais hospitalares, sendo, portanto, mais prevalente em infecções nosocomiais (SILVA *et al.*, 2011), diferentemente de pacientes neonatos, receptores de transplantes e pacientes em nutrição parenteral, que apresentaram um maior percentual de infecção por *C. parapsilosis* (TROFA *et al.*, 2008). A

incidência de infecção por *C. tropicalis* é a segunda maior em pacientes hospitalizados, sob condições de imunossupressão da microbiota intestinal, bem como quadros de doenças malignas e neutropenia (COLOMBO *et al.*, 2007).

3.1.3. Fisiopatologia

O fungo produz adesinas funcionalmente distintas que fazem a mediação da aderência às células hospedeiras e contribuem para a virulência. Essas adesinas incluem uma proteína semelhante à integrina (que se liga ao fibrinogênio, fibronectina e laminina), uma proteína que se liga às células epiteliais, e várias aglutininas que se ligam às células endoteliais ou à fibronectina. A adesão é um importante determinante do grau de virulência. A expressão diferente de cada adesinas faz com que receptores distintos trabalhem no reconhecimento de cada situação (KUMAR *et al.*, 2010).

A *Candida* produz numerosas enzimas que contribuem para a capacidade invasiva, que invadem o tecido através da degradação de proteínas da matriz extracelular, e catalases, que permitem que o organismo resista à morte oxidativa pelos macrófagos e neutrófilos (KUMAR *et al.*, 2010).

A fagocitose seguida pela morte oxidativa é considerada a primeira linha de defesa para o fungo em questão. Em indivíduos com neutropenia ou defeitos na Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato (NADPH) oxidase ou mieloperoxidase, o risco de falha desse mecanismo é ainda maior. As formas filamentosas podem escapar de fagossomos e entrar no citoplasma e proliferarem, ativando as células dendríticas através de múltiplas vias, como por exemplo, a β -1,3-glicanos expressa pela levedura unem-se à dectina nas células dendríticas e induzem a produção de Interleucina seis (IL-6) e Interleucina vinte e três (IL-23), o que promove as respostas dos Linfócitos T CD4⁺ *helper*17(T_H17) que, por sua vez, recrutam neutrófilos e monócitos (KUMAR *et al.*, 2010).

3.1.4. Tratamento convencional

Fluconazol é, hoje em dia, o agente antifúngico mais amplamente utilizado. É um triazólico hidrofílico, disponível em formulações oral e intravenosa. Sua biodisponibilidade na forma oral é de quase 100%, e, ao contrário do Cetoconazol e do Itraconazol, sua absorção não é influenciada pelo potencial hidrogeniônico (pH) gástrico. Quando absorvido, consegue fazer difusão livre no líquido cefalorraquidiano (LCR), urina, escarro e saliva, sendo excretado primariamente pelos rins. Como apresenta poucos efeitos adversos e consegue atravessar a

barreira hematoencefálica, o Fluconazol é o fármaco de primeira linha para tratamento de cândida sistêmica e meningite criptocócica (ALIKHAN; TAYLOR; ARMSTRONG, 2009).

Verifica-se rápido desenvolvimento de resistência fúngica ao Fluconazol, particularmente com espécies de *Candida*, os patógenos mais notáveis quanto ao desenvolvimento de resistência (p. ex., *C. glabrata*), devido à capacidade de incluírem mutações enzimáticas da proteína p450 (enzimas do citocromo CYP), além de expressarem proteínas de efluxos, capazes de eliminar o fármaco do meio intracelular (ALIKHAN; TAYLOR; ARMSTRONG, 2009).

O Fluconazol é capaz de interagir com outros fármacos, podendo aumentar níveis plasmáticos de amitriptilina, ciclosporinas, fenitoína e varfarina, ou reduzir de outros, como a carbamazepina, isoniazida e fenobarbital. Seus efeitos colaterais estão mais relacionados com alterações do trato gastrointestinal, como náuseas, vômitos, dor abdominal e diarreia, acometendo cerca de 10% dos pacientes. Além disso, podemos citar alopecia reversível com terapia oral e, em casos mais raros, foram relatados casos e síndrome de Stevens-Johnson e insuficiência hepática (ALIKHAN; TAYLOR; ARMSTRONG, 2009).

A Anfotericina B é claramente uma droga muito potente contra *Candida spp.* estando na toxicidade renal e hematológica a sua maior limitação. O Fluconazol é uma droga vastamente utilizada com eficácia comprovada para inúmeras situações clínicas. Com relação às infecções graves e candidemias, especialmente por conta da diminuição da sensibilidade de algumas espécies de *Candida* aos azóis e o aumento da incidência de espécies não *Candida não-albicans*, as equinocandidas são atualmente fortemente recomendadas (MAGRI, 2018).

A duração do tratamento da candidíase varia com o tipo de manifestação clínica. Para a candidemia não complicada, deve-se manter o tratamento por 14 dias após a negatificação da hemocultura. A mudança do tratamento para VO pode ser considerada depois de pelo menos 10 dias de terapia intravenosa (MAGRI, 2018).

A Anfotericina B atua mediante a ligação ao ergosterol, com ruptura da estabilidade da membrana dos fungos. Tanto seu efeito terapêutico quanto sua toxicidade estão relacionados com a afinidade pelos esteróis das membranas plasmáticas. Felizmente, a afinidade da Anfotericina B pelo ergosterol é 500 vezes maior do que sua afinidade pelo colesterol. A ligação da Anfotericina B ao ergosterol produz canais ou poros que alteram a permeabilidade da membrana do fungo e viabilizam o extravasamento de constituintes celulares essenciais, acarretando finalmente a morte da célula. A concentração de ergosterol associado à membrana em determinada espécie de fungo determina se a Anfotericina B será fungicida ou fungistática para essa espécie (ALIKHAN; TAYLOR; ARMSTRONG, 2009).

A resistência a esse fármaco, apesar de menos frequente do que a de outros agentes antifúngicos, é atribuível à redução no conteúdo de ergosterol da membrana fúngica. Além de sua atividade na formação de poros, Anfotericina B parece desestabilizar as membranas dos fungos mediante geração de radicais livres tóxicos, com oxidação do fármaco (ALIKHAN; TAYLOR; ARMSTRONG, 2009).

A toxicidade da Anfotericina B limita seu uso clínico. Seus efeitos adversos são divididos em três grupos: reações sistêmicas imediatas, efeitos renais e efeitos hematológicos. Reações sistêmicas podem incluir “tempestade de citocinas”, em que a Anfotericina B desencadeia liberação de fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) e interleucina-1 (IL-1) das células do sistema imune do hospedeiro. Por sua vez, TNF- α e IL-1 provocam febre, calafrios, tremores musculares e hipotensão nas primeiras horas após a administração do fármaco. Em geral, essas respostas podem ser minimizadas ao diminuir a taxa de administração do medicamento ou mediante pré-tratamento com agentes antipiréticos (p. ex., paracetamol, agentes anti-inflamatórios não esteroidais-AINEs, ou hidrocortisona) (ALIKHAN; TAYLOR; ARMSTRONG, 2009).

A toxicidade renal de Anfotericina B constitui evento adverso grave, cujo mecanismo não é conhecido, mas pode estar relacionado com vasoconstrição de arteríolas aferentes mediada por anfotericina, resultando em isquemia renal. Com frequência, a toxicidade renal é fator limitante na determinação do grau de resposta terapêutica à anfotericina B. Pode ser necessário suspender temporariamente a terapia se o nível sanguíneo de ureia ultrapassar 50 mg/dL, ou se o nível sérico de creatinina for superior a 3 mg/dL. (Ureia e creatinina são medidas substitutas da função renal.) Podem ocorrer acidose tubular renal, cilindúria (cilindros de células renais na urina) e hipopotassemia a ponto de exigir reposição eletrolítica. O tratamento com Anfotericina B tem de ser interrompido imediatamente após desaparecimento dos sintomas agudos do paciente, a fim de evitar o desenvolvimento de toxicidade renal. (ALIKHAN; TAYLOR; ARMSTRONG, 2009).

A toxicidade hematológica da Anfotericina B também é comum, e a anemia é provavelmente secundária à produção diminuída de eritropoetina. As toxicidades renal e hematológica do fármaco são cumulativas e estão relacionadas com a dose. As medidas terapêuticas passíveis de minimizá-las consistem em evitar o uso de outros fármacos nefrotóxicos, como aminoglicosídeos e ciclosporina, e manter o estado de euvolemia para proporcionar perfusão renal adequada (ALIKHAN; TAYLOR; ARMSTRONG, 2009).

3.1.5. Uso de plantas medicinais no tratamento de micoses

Devido ao aumento da resistência aos antimicrobianos convencionais, as plantas de uso medicinal têm sido intensamente estudadas como agentes alternativos para a prevenção de doenças e infecções. Para isso, já foram testados muitos extratos eficientes (PACHECO *et al.*, 2015).

Segundo Bernardes *et al.* (2010), o extrato das folhas de *Aloe Vera* é capaz de inibir o crescimento e a proliferação da *C. albicans* e pode ser usada como um promissor antifúngico. Ainda nesse estudo eles provaram que a babosa é capaz de inibir a formação de biofilme em cateteres. Por Gazimet *al* (2007) também foi testado o potencial antifúngico do óleo essencial obtido das folhas de *Calendula officinalis*, que foi capaz de inibir a proliferação de 23 amostras clínicas de *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii*, *Candida krusei* testadas.

Além disso, a *Curcuma longa* também foi pesquisada quanto ao seu potencial antifúngico em associação com *Zingiber officinale* e *Dioscorea bulbifera*, e foi capaz de ter significativo controle antimicrobiano e é uma alternativa de tratamento aos humanos resistentes aos patógenos (OKIGBO *et al.*, 2009). Ainda sobre o açafrão, Pacheco *et al.* (2015), também descreve seu potencial, demonstrando a folha ter atividade sinérgica com a Anfotericina B e o rizoma atividade antagônica sobre o mesmo fármaco.

Própolis, sálvia, calêndula e mamona tiveram sua atividade antifúngica testada a partir de extratos naturais sobre cepas de *C. albicans*, concluindo que o extrato de *Apis mellífera* foi o mais efetivo (MOLINA *et al.*, 2008). Contudo, foi observado que, ocorreu inibição da *Candida* sp no contato com os extratos hidroglicólicos das plantas *Arctium lappa L.*, *Calendula officinalis L.*, *Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville* e *Tabebuia avellanae Lorentz ex griseb* o que vislumbra a possibilidade de desenvolvimento de tratamento complementar, menos agressivo, de menor custo e sem toxicidade, o que possibilitaria melhor qualidade de vida para portadoras de candidíase vaginal recorrente ou não (GLEHN; RODRIGUES, 2012).

3.1.6. *Libidibia ferrea*

Libidibia ferrea, popularmente conhecida como Jucá ou pau-ferro, é uma planta bastante utilizada na medicina popular devido aos seus frutos que possuem ação contra diabetes e anemia, além da atividade anticancerígena. Pertence a uma das maiores famílias botânicas as *Fabaceas*, sendo uma das mais importantes dos grupos de plantas entre as fanerógamas (CAVALHEIRO *et al.*, 2009).

As propriedades medicinais da *L. ferrea* são diversas, dentre essas, tem-se tratamento de feridas, contusões, combate a asma e a tosse crônica com o uso da entrecasca. Já a casca do caule é usada para emagrecimento e como descongestionante em casos de enterocolite e diarreia, como, também, para o tratamento de feridas cutâneas e possíveis benefícios para o sistema cardiovascular (GLAUBER *et al.*, 2013).

O estudo fitoquímico do extrato hidroalcolólico da casca e das folhas e jucá verificou a presença de flavonoides, saponinas, taninos, cumarinas, esteroides e compostos fenólicos, sendo os taninos os compostos majoritários do extrato e são considerados os responsáveis pela atividade antidiabética. No caule também foram encontrados a presença de flavonoides, taninos, cumarinas, esteroides e derivados antracênicos (SOUZA *et al.*, 2006).

Os flavonoides conferem características anti-inflamatórias, os taninos conferem ação antisséptica e cicatrizante, já as cumarinas são as principais responsáveis pela ação antibacteriana e antifúngica (PAIVA *et al.*, 2015). Quanto à ação antimicrobiana evidenciou-se ação sobre microrganismos do biofilme dental sobre as cepas *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Enterobacter gergoviae* (PEREIRA *et al.*, 2006).

4. METODOLOGIA

4.1 Tipo de estudo

Foi realizado um estudo de caráter experimental, de abordagem indutiva .

4.2 Coleta do material vegetal

A coleta das amostras de *L. ferrea* foi realizada na cidade de Tocantinópolis-TO/Brasil; coordenadas geográficas latitude 06°19'46" sul e a uma longitude 47°24'59" oeste. As amostras foram identificadas e reconhecidas pelo professor Carlos Melo, botânico e, posteriormente, armazenadas no Laboratório de Microbiologia da Universidade Evangélica de Goiás – UniEVANGÉLICA.

Foi utilizado facão para a coleta, as amostras foram acondicionadas em folhas de jornal, ao abrigo da luz, para que a secagem pudesse acontecer naturalmente.

4.3 Obtenção dos extratos de *L. ferrea*

A obtenção dos extratos de *L. férrea* 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 amostras (secas em temperatura ambiente) de *L. ferrea* foram maceradas, após esse processo, armazenadas em frasco escuro contendo etanol (proporção 1:4), qual o volume final da amostra macerada? 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).

As amostras das folhas de *Libidibia férrea* foram pulverizadas em *mixer*, totalizando 30,42 g, conforme se observa na figura 01, e posteriormente colocadas em contato com 400 ml de álcool 99% para maceração (figura 02) por 24 horas.



Figura 01. Pulverização folhas *Libidibia ferrea* utilizando mixer.

Fonte: os autores



Figura 02. Maceração da amostra pulverizada com álcool.

Fonte: os autores

Logo após o extrato etanólico foi filtrado, conforme se observa na figura 03, e colocado em um *becker* o qual foi envolvido com papel alumínio (ao abrigo da luz) e colocado na geladeira (4°C). No período que antecedeu os experimentos, o extrato obtido foi colocado em um balão do tipo pera de 100 ml e encaixado no rotaevaporador e vedado com um parafilme, em seguida foi imerso em água com uma temperatura de 45 graus Celsius e com uma rotação de 64 rotações por minuto que após 1 hora foi mudado para 80 rotações por minuto, para que todo o álcool fosse retirado. No primeiro dia o procedimento de rotaevaporação começou as 10:20 e terminou as 16:30, já no dia seguinte ficou das 8:00 às 10:00 e assim foi obtido o extrato da planta com todo o álcool evaporado após 8 horas total de secagem, como visto nas figuras 04 e 05.



Figura 03. Filtração do extrato obtido.

Fonte: os autores



Figura 04. Secagem da amostra em rotaevaporador.

Fonte: os autores



Figura 05. Extrato pronto, após retirada de todo álcool presente.

Fonte: os autores

4.4 Cultivo e manutenção do fungo

Para a realização do cultivo, as cepas de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ATCC (*American Type Culture Collection* - 2019) foram cultivadas em meio Ágar Sabouraud Dextrose (Peptona 10g/L; Dextrose 40g/L; Ágar 15g/L). As cepas foram mantidas em estufa a

36°C por 72 horas, quando foram submetidas à experimentação ou novo repique (MENEZES et al., 2012).

4.5 Teste de sensibilidade em placas

Para o teste de sensibilidade em meio sólido, amostras contendo um número de 10^4 células de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, e *C. tropicalis* com três dias de crescimento em 30mL de ágar nutriente suplementado com glicose, foram transferidas para novas placas que contenham o mesmo meio de cultura somado aos extratos de *L. ferrea* 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).

4.6 Teste de sinergismo

Para o teste de sinergismo, foram placas-controle contendo os extratos de *L. ferrea*, além de placas-controle com drogas conhecidas (Fluconazol 30 mg/mL). As placas de teste, para avaliação da atividade sinérgica entre extratos etanólicos de rizoma e folha de *L. ferrea* em combinação com fluconazol, foram construídas em triplicatas biológicas, sendo utilizadas as mesmas concentrações T1 (0,25 mg/ml), T2 (0,50 mg/ml) e T3 (1,0 mg/ml) dos extratos da planta, bem como de fluconazol das placas-controle. As placas foram incubadas por três dias a 36°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).

4.7 Teste de sensibilidade por disco de difusão

Discos de papel esterilizados (diâmetro de 6 mm) foram embebidos previamente no extrato obtido da planta em diferentes concentrações. Posteriormente, foram inoculados $1,5 \times 10^8$ células/mL de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, e *C. tropicalis* em placas de meio nutriente e, em seguida, os discos foram retirados dos tubos com uma pinça esterilizada e colocados sobre as placas Petri contendo o meio. As placas foram incubadas em estufa, a 36°C por três dias e, 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).

5. RESULTADOS

5.1 Rendimento do extrato

Depois do período de secagem as folhas de *L. ferrea* foram pulverizadas e em seguida feita a pesagem e o cálculo do rendimento (Quadro 1).

Quadro 1. Obtenção de extrato de *L. ferrea*.

Espécie	Extrato	Massa(g)	EE(g)	Rendimento
<i>Libidibia ferrea</i>	Folha	30,42g	17,45	5,3%

EE: Extrato etanólico

Desse modo para 30,42 g de folhas, o percentual de rendimento de extrato foi de 5,3%.

5.2 Teste de Sensibilidade de Placas

Amostras contendo 1×10^4 como concentração de células fúngicas foram inoculadas em meio ágar nutriente suplementados com o extrato de *L. ferrea* nas concentrações 0,250 mg/ml (T1), 0,50 mg/ml (T2) e 1,00 mg/ml (T3) e essas concentrações foram escolhidas de acordo com o estudo de Luna *et al* (2020).

Levando-se em consideração a placa controle, os resultados mostram que o crescimento de *C. albicans* (Figura 6) e *C. tropicalis* (Figura 7) foi inibido de maneira significativa na maior concentração testada (1,00 mg/ml) do extrato etanólico de *L. ferrea*.

Para *C. parapsilosis* (Figura 8) a inibição do fungo se dá, conforme observado, de maneira dose dependente a partir da segunda concentração testada, 0,50 mg/ml do extrato etanólico de *Libidibia ferrea*, sugerindo uma maior fragilidade de *C. parapsilosis* sob os efeitos do extrato.

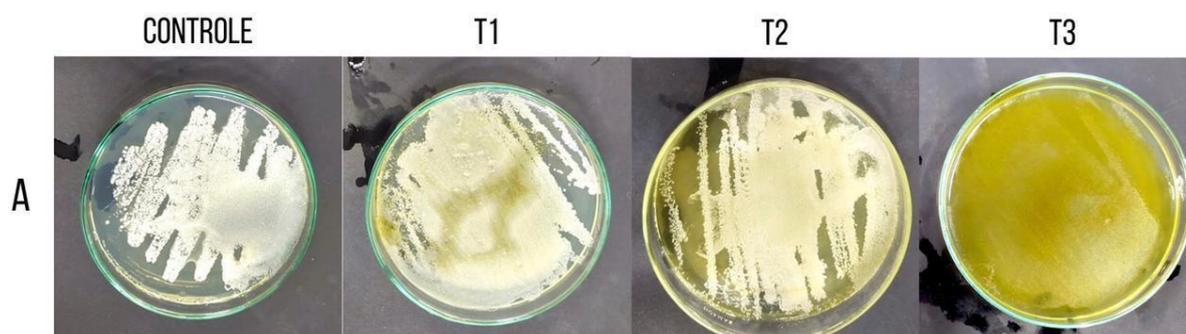


Figura 06. Crescimento de *C. albicans* em ágar nutriente suplementado com extrato etanólico de *Libidibia ferrea* nas concentrações 0,250 mg/ml (T1), 0,50 mg/ml (T2) e 1,00 mg/ml (T3).

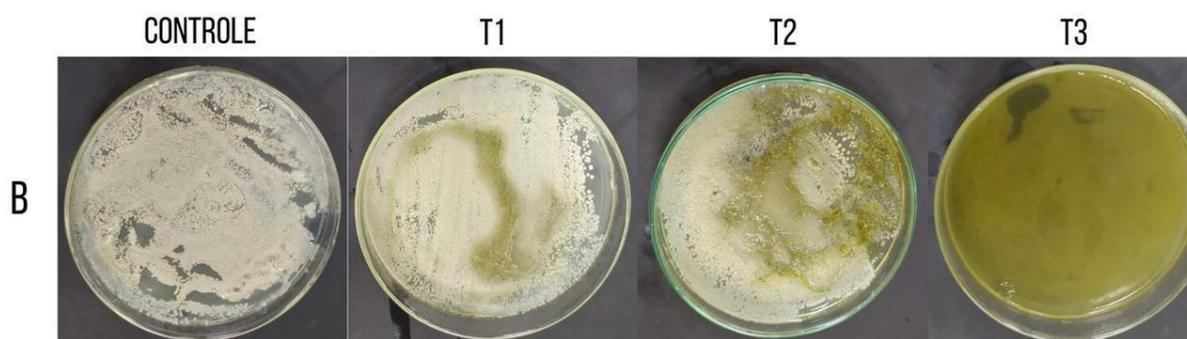


Figura 07. Crescimento de *C. tropicalis* em ágar nutriente suplementado com extrato etanólico de *Libidibia ferrea* nas concentrações 0,250 mg/ml (T1), 0,50 mg/ml (T2) e 1,00 mg/ml (T3).

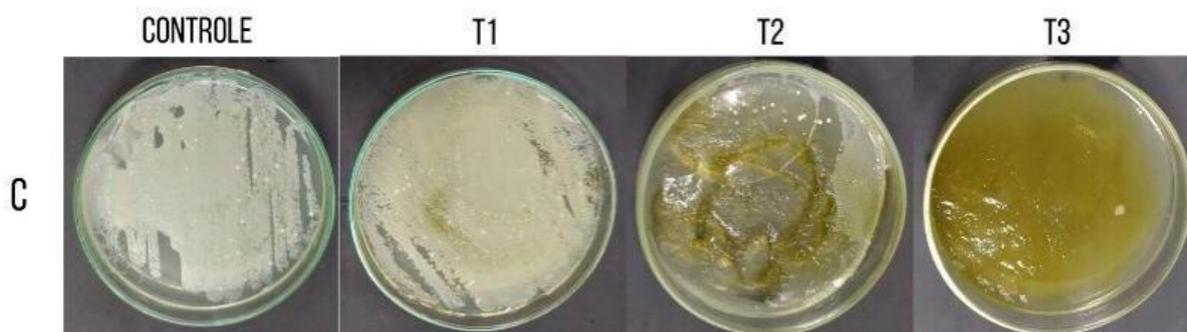


Figura 08. Crescimento de *C. parapsilosis* em ágar nutriente suplementado com extrato etanólico de *L. ferrea* nas concentrações 0,250 mg/ml (T1), 0,50 mg/ml (T2) e 1,00 mg/ml (T3).

5.3 Teste de sensibilidade por disco de difusão

O teste de sensibilidade por disco de difusão foi realizado para avaliar a sensibilidade antifúngica do extrato de *L. ferrea* sobre *C. albicans*, *C. parapsilosis*, e *C. tropicalis*. O experimento foi realizado através de duas placas Petri contendo meio de cultura Agar nutriente, onde posteriormente foi inoculado células de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, e *C. tropicalis* e adicionado discos de papel filtro embebidos no extrato da folha em diferentes concentrações, sendo elas ,250 mg/ml (T1), 0,50 mg/ml (T2) e 1,00 mg/ml (T3). As placas foram mantidas à temperatura ambiente, e no terceiro dia foi realizado o memorial fotográfico com câmera do celular, sem auxílio de micorscopia eletrônica. Levando em consideração os halos de inibição, os resultados mostram que das concentrações utilizadas do extrato de *L. ferrea*, não foi possível observar a inibição do crescimento de *C. albicans* (Figura9) e *C. tropicalis* (Figura 10) e *C. parapsilosis* (Figura 11), em nenhuma das concentrações realizadas.



Figura 9. Crescimento de *C. albicans* em ágar nutriente suplementado com extrato etanólico de *L. ferrea*



Figura 10. Crescimento de *C. tropicalis* em ágar nutriente suplementado com extrato etanólico de *L. ferrea*.



Figura 11. Crescimento de *C. parapsilosis* em ágar nutriente suplementado com extrato etanólico de *L. ferrea*.

5.4 Teste de Sinergismo

O teste de sinergismo foi realizado para avaliar possível interação entre o extrato de *L. ferrea* e antifúngicos convencionais, como o fluconazol. Foram cultivadas placas de teste, para avaliação da atividade entre o extrato em combinação com fluconazol 30 mg/ml, construídas em triplicatas biológicas, utilizando as mesmas concentrações dos extratos da planta, bem como de fluconazol das placas-controle. As placas foram incubadas por três dias a 36°C antes de serem fotografadas.

Quando comparados com a placa-controle sem nenhum inibidor (Figura 12), os resultados mostram presença de atividade sinérgica na placa que contém extrato de *Libidibia ferrea* e fluconazol no que se remete a inibição da proliferação de *C. parapsilosis*, sendo tal efeito visível nas concentrações T2 e T3, com respectivos 0,50 mg/ml (T2) e 1,00 mg/ml (T3) de extrato, junto a 30 mg/ml de fluconazol.

Já nas demais espécies, *C. Albicans* e *C. tropicalis*, não se observou atividade sinérgica ou antagonista pela interação extrato e fluconazol.

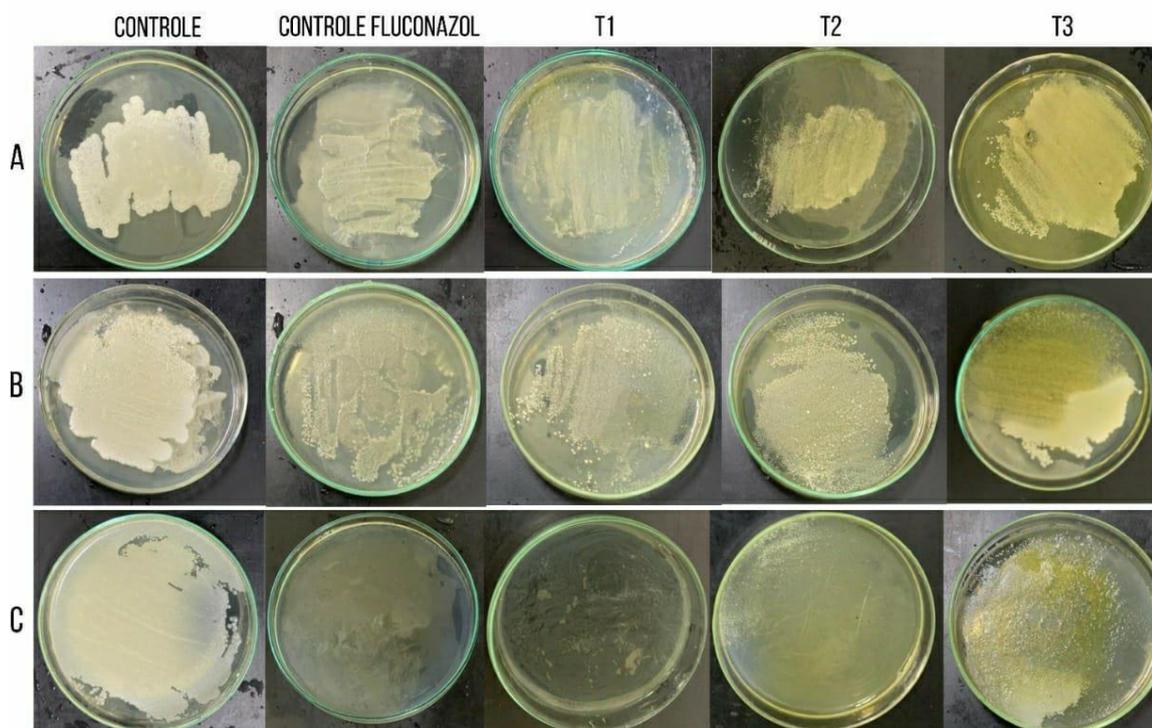


Figura 12. Teste da atividade sinérgica do extrato etanólico de *L. ferrea* em combinação com Fluconazol. (A) representação de *C. Albicans* placa controle, controle com fluconazol, e interação entre o extrato de *Libidibia* e fluconazol nas concentrações, 0,250 mg/ml (T1), 0,50 mg/ml (T2) e 1,00 mg/ml (T3). (B) representação de *C. tropicalis* placa controle, controle com fluconazol, e interação entre o extrato de *Libidibia* e fluconazol nas concentrações 0,250 mg/ml (T1), 0,50 mg/ml (T2) e 1,00 mg/ml (T3). (C) representação de *C. Parapsilosis* placa controle, controle com fluconazol, e interação entre o extrato de *Libidibia* e fluconazol nas concentrações, 0,250 mg/ml (T1), 0,50 mg/ml (T2) e 1,00 mg/ml (T3).

6. DISCUSSÃO

Rendimento do extrato

Paiva *et al* (2015), em seu trabalho, utilizou 300g da planta para um litro de álcool etílico absoluto, que, após todo processo de extração do material, obteve-se uma solução de 14,8g, tendo como rendimento de extrato 4,9%. Essa diferença do rendimento do extrato pode ser explicada devido ao local de coleta da amostra, a idade da planta e ao tempo de exposição ao álcool utilizada no extrato de Paiva *et al* (2015)

Teste de sensibilidade de placas

Como também demonstrado pelo trabalho de Paiva (2015), o extrato etanólico da *L. ferrea* teve inibição satisfatória em células fúngicas, assim como em bactérias, como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. A aplicação do extrato bruto resultou em uma inibição de 61%, sendo que a aplicação do extrato com concentração de 70%, resultou em uma inibição de 27% e com o extrato com concentração de 50% ocorreu uma inibição menor de cerca de 5%, presentes no leite de cabra, causadores de mastite. Além disso, o trabalho de Oliveira *et al.* (2013) também obteve resultados positivos com o uso do extrato etanólico da *L. ferrea* em microrganismos comuns da microbiota bucal, como *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Lactobacillus casei*, *Candida albicans* e *Streptococcus mutans*. Por fim, pode-se observar inibição bacteriana no trabalho de Tomaz (2013), conseguindo resposta contra cepas de *Streptococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Teste de sensibilidade por disco de difusão

No trabalho de Sousa e colaboradores (2018) foi testado o extrato aquoso de folhas e caules de *Costusspiralis* (Jacq.) para avaliação da capacidade antifúngica contra cepas de *Candida*. As concentrações de extrato de *C. spiralis* usadas não demonstraram atividade inibitória contra *C. albicans* ou *C. parapsilosis*. Resultado semelhante foi encontrado no estudo aqui conduzido em relação a *C. albicans* e *C. parapsilosis*. Já no trabalho de Akpan e colaboradores (2012) utilizando o método de disco de difusão, o extrato etanólico de *Costusafer* nas concentrações de 150 mg/mL, 100 mg/mL e 50 mg/mL mostrou eficácia contra *S. aureus*, *S. pneumoniae* e *E. coli*, enquanto *P.aeruginosa* e *S. pyogenes* foram suscetíveis em alta concentração 150 mg/mL e 100 mg/mL.

Teste de Sinergismo

Vários 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), bem como também foi observado por Rukayadi e colaboradores (2009) entre o *sesquiterpeno xantorizol* obtido de *Curcuma xanthorrhiza* (Gengibre javanês) e anfotericina B sobre *Candida spp.*

Já em seu trabalho Prado e colaboradores (2015) evidenciaram que quando comparados com a placa-controle de *C. parapsilosis* sem nenhum inibidor, os resultados mostram presença de atividade sinérgica na placa que contém extrato de folha de *Curcuma longa* e anfotericina B, bem como na placa que contém extrato de folha e sulfonamida. Já na placa onde há fungo, extrato de rizoma e anfotericina B, 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, os resultados mostram inibição do crescimento do fungo, porém sem caracterizar atividade sinérgica ou antagônica.

Ademais, a associação entre os 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 krus*

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No que tange a sensibilidade da *L. ferrea* contra as células de *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*, o crescimento de *C. albicans* e *C. tropicalis* foi inibido de maneira significativa na maior concentração testada (1,0 mg/ml) do extrato etanólico de *L. ferrea*. Para *C. parapsilosis* a inibição do fungo se dá, também de maneira dose dependente, porém a partir da segunda concentração testada, 0,50 mg/ml do extrato etanólico de *L. ferrea*.

Assim, pode-se concluir que o extrato etanólico de *L. ferrea* apresenta atividade antifúngica sobre *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* de maneira dose dependente, evidenciando o potencial antifúngico da planta utilizada no estudo.

8. REFERÊNCIAS

AKPAN, M. M. et al. Antimicrobial assessment of ethanolic extract of *Costusafer* leaves. **Asian journal of plant science and research**, v. 2, n. 3, p. 335-341, 2012.

ALIKHAN, A.; TAYLOR, C.R.; ARMSTRONG, A.W. Farmacologia das Infecções Fúngicas. GOLAN, D. E., et al. In: **Princípios de Farmacologia**. 3. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan LTDA, 2009, p. 1288-1305.

BAUER, A.W; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. **Antibiotic Susceptibility** 29 Testingby a Standartized Single Disc Method. *Am J ClinPathol*. v. 45, p. 493-496, 1966.

BERNARDES, W.A. et al. Antimicrobialactivity of *Rosmarinusofficinalis* against oral pathogens: relevance of carnosic acid and carnosol. **Chemistry & Biodiversity**, v.7, n.7, p.1835-40, 2010.

BETONI, J.E.C et al. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on 33 *Staphylococcus aureus* diseases. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 4, p. 387-34 390, 2006.

CAMPOS, T. M.; COSENTINO, C. M.R. Avaliação do comportamento de leveduras do gênero *Candida* a fármacos antifúngicos. **Revista de Trabalhos Acadêmicos da FAM**, v. 4, n. 1, 2019.

CASTRO, R. D. Atividade antifúngica in vitro do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* L. sobre *Candida* spp. **Revista Odontológica da UNESP**, v. 39, n. 3, 2010.

CAVALHEIRO, M. G. et al. Atividades biológicas e enzimáticas do extrato aquoso desementes de *Caesalpiniaferrea* Mart., Leguminosae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2b, p. 586-591, 2009.

COLOMBO, A. L; GUIMARÃES, T. Candidúria: uma abordagem clínica e terapêutica. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.40, n. 3, p. 332-337, 2007.

COLOMBO, A. L; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.36, n.5, p.599-607, 2003.

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 (*Passifloracinnata* Mast.). Itapetinga [Dissertação de Mestrado em Meio Ambiente e Desenvolvimento – **Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais** - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia], 2013

DE ALMEIDA F. N. et al. Avaliação da mucosa oral através de exames clínicos e citopatológicos para identificar candidíase. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 76, p. 1-7, 2019.

DE PAULA B. e NOGUEIRA J. Possível relação entre candidíase oral e candidemia em pacientes hospitalizados. **Revista Fluminense de Odontologia**, v. 2, n. 50, 2018.

DEORUKHKAR, S. C. et al. Virulence factors contributing to pathogenicity of *Candidatropicalis* and its antifungal susceptibility profile. **International Journal of Microbiology**, 2014.

GAZIM, Z. C. et al. Antifungal activity of the essential oil from *calendula officinalis* L. (ASTERACEAE) GROWING IN BRAZIL. **Brazilian Journal of Microbiology**, Maringá, v. 39, n. 1, p. 61-63, 2007.

GLAUBER, P. O., et al. Atividade antimicrobiana in vitro de extratos da casca do caule e da vagem de *Libidibiaferrea* L. frente a microrganismos da cavidade bucal. **Revista fitos**, Rio de Janeiro v.8, n.2, p. 73-160, 2013.

GLEHN, E. A. V.; RODRIGUES, G. P. S. Antifungigrama para comprovar o potencial de ação dos extratos vegetais hidroglicólicos sobre *Candida* sp. (Berkhout). **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 14, n. 3, p. 435-438, 2012.

GOLAN, E. J. A. E. L. B. Princípios de Inflamação e o Sistema Imune. In: **Princípios da Farmacologia**. 8ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. Cap. 6, p. 679-680.

GOULART, L. S. et al. Colonização oral por espécies de *Candida* em pacientes HIV positivo: estudo de associação e suscetibilidade antifúngica. **Einstein** (São Paulo), v. 16, n. 3, 2018.

JAWETZ, E., MELNICK, J. L., ADELBERG, E. A. Micologia. In: microbiologia médica. Rio de Janeiro. **Guanabara koogan**. 20ª ed. p. 420-421, 483-485, 1998.

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.

KUMAR, V.; ABBAS, A.; FAUSTO, N. Robbins & Cotran – Patologia – **Bases Patológicas das Doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010

LOPES, A. C. **Tratado de Clínica Médica**. 3.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan LTDA, 2018.

LUNA, M. S. M. Bioprospecção de *Libidibia férrea* var. *férrea*: propriedades fitoquímicas e atividade antibacteriana. **South African Journal of Botany**, v.130, p.103-108, 2020.

MAGRI, M. Candidíase. In: LOPES, A. C. **Tratado de Clínica Médica**. 3ª. ed. Rio de Janeiro: ROCA, v. I, Cap. 364, p. 6142-6149, 2016.

MENEZES EA, Junior AAV, Cunha FA, Braz BHL, Silva CLF. Identificação Molecular suscetibilidade antifúngica de *Candida parapsilosis* isoladas no Ceará, Brasil. **J Bras Patol Med Lab** 48: 415-420, 2012.

MOLINA, F. P. et al. Própolis, sálvia, calêndula e mamona – atividade antifúngica de extratos naturais sobre cepas de *Candida albicans*. **Ciências Odontológicas Brasileiras**, São José dos Campos, v. 11, n. 2, p. 86-93, 2008.

MORAES, J. Q.; NUNES, J. R. S.; PINHEIRO, A. P.; PESSOA, S. P. M. Etnobotânica de plantas medicinais com alunos do ensino médio de um colégio estadual de Tangará da Serra-MT. **3ª jornada científica da Unemat**, Cáceres/MT Brasil, 20-24 setembro, 2010.

OKIGBO et al., Efectos in vitro del ajo (*Allium sativum* L.) y albahaca africana (*Ocimum gratissimum* L.) sobre patógenos aislados de raíces de yuca podrida. **Interciencia**, v. 34, n. 10, p. 742-747, 2009.

PACHECO, D. D. R. et al. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE *Curcuma longa* SOBRE *Candida parapsilosis*. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 3, p. 258-270, Julho/Setembro 2015.

PAIVA, W. S., et al. Atividade antibacteriana da casca do Jucá (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz), frente a *Staphylococcus* spp. Isolados do leite de cabra com mastite. **Archives of Veterinary Science**, v.20, n.2, p.141-146, 2015.

PEREIRA, M.S.V., RODRIGUES, O.G., FEIJÓ, F.M.C., et al. Atividade antimicrobiana de extratos de plantas no Semiárido Paraibano. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v.2, n.1, p. 37-43, 2006.

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. **Plos one** 9: 11-13, 2014.

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.

SILVA, C. W. V. et al. Candidíase vulvovaginal e patogenicidade dos fungos infectantes. **Mostra Científica da Farmácia**, v.5, 2019.

SILVA, S.; NEGRI, M. et al. Adherence and biofilm formation of non-*Candida albicans* *Candida* species. **Trends in Microbiology**, v. 19, n. 5, p. 241-247, 2011

SOUSA, WENDEL C. DE et al. In vivo assessment of cyto/genotoxic, antigenotoxic and antifungal potential of *Costus spiralis* (Jacq.) Roscoe leaves and stems. **An. Acad. Bras. Ciênc.**, Rio de Janeiro, v. 90, n. 2, p. 1565-157, Apr. 2018.

SOUZA; A.B., SOUZA, L.M.S., CARVALHO, J.C.T., MAISTRO, E. L. Nonclastogenic activity of *Caesalpinia ferrea* Mart. (Leguminosae) extract on bone marrow cells of Wistar rats. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 2, p. 380-383, 2006.

TINTINO, S. R., et al. Avaliação In vitro da atividade antimicrobiana e moduladora dos extratos etanólico e hexânico de bulbo de *Costus arabicus* **Bioscience Journal**, v. 29, n. 3, p. 732-738, 2013.

TOMAZ, A. M., et al. Sensibilidade de isolados de *Candida* spp. a antifúngicos por disco-difusão em ágar e microdiluição em caldo. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 1, p. 304-310, 2013.

TRABULSI, L. R. **Micologia. In Microbiologia**. São Paulo, 1996, Atheneu. Z^aed. p 239—251, 285-286.

TROFA, D. *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. **In American Society for Microbiology Journals**. Washington DC, 2008.

VERONESI-FOCACCIA. **Tratado de Infectologia**, 5.Ed. São Paulo, Atheneu, 2015.

VIANA, A. S. et al. OS FATORES RELACIONADOS A INCIDÊNCIA DA CÂNDIDA ALBICANS. **Anais EletrônicoCic**, v. 17, n. 17, 2019.