



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE – UFCG  
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE – CES  
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE – UAS  
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

NAYANA DA ROCHA OLIVEIRA

**INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE *Sida planicaulis* SOBRE  
LEVEDURAS POTENCIALMENTE PATOGÊNICAS**

CUITÉ-PB

2017

NAYANA DA ROCHA OLIVEIRA

**INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE *Sida planicaulis* SOBRE  
LEVEDURAS POTENCIALMENTE PATOGÊNICAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
à Coordenação do Curso de Bacharelado em  
Farmácia do Centro de Educação e Saúde da  
Universidade Federal de Campina Grande,  
como requisito obrigatório para obtenção do  
título de Bacharel.

Orientador: Prof. Dr. Egberto Santos Carmo

CUITÉ-PB

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE  
Responsabilidade Msc. Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

O48i Oliveira, Nayana da Rocha.

Investigação do potencial antifúngico de *Sida planicaulis* sobre leveduras potencialmente patogênicas. / Nayana da Rocha Oliveira. – Cuité: CES, 2017.

55 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2017.

Orientador: Egberto Santos Carmo.

1. Atividade antifúngica. 2. *Sida planicaulis*. 3. Leveduras. I. Título.

Biblioteca do CES - UFCG

CDU 635.8

NAYANA DA ROCHA OLIVEIRA

**INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE *Sida planicaulis* SOBRE  
LEVEDURAS POTENCIALMENTE PATOGÊNICAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito obrigatório para obtenção do título de Bacharel.

**APROVADO EM: 06 / 02 / 2017**

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. Egberto Santos Carmo**

(Orientador/UAS/CES/UFCG)

---

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Júlia Beatriz Pereira de Souza**

(Examinadora/UAS/CES/UFCG)

---

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Lidiane Pinto Correia**

(Examinadora/CERTBIO/UNINASSAU)

*Dedico este trabalho à minha mãe, que diante de todas as dificuldades foi forte e me fez forte embarcando neste sonho comigo e aos meus Padrinhos (Dué e Edite).*

## AGRADECIMENTOS

Sou grata a Deus pela vida, saúde e determinação para que este sonho se tornasse possível. Por todas as vezes em que a caminhada parecia difícil, quando o desespero, a angústia e os pensamentos negativos me tomavam, mas que logo se dissipavam ao compreender que sou apenas uma gota no mar da vida e que Ele jamais me abandonaria ou me proporcionaria algo que me julgasse incapaz. Sonhei e Ele realizou!

À minha mãe, minha melhor amiga, que sempre acreditou, apoiou e sonhou comigo e, que mesmo distante, se fez presente em todos os momentos da minha graduação. Sendo minha principal incentivadora e meu exemplo de vida. Sou uma sortuda em tê-la como mãe. Obrigada por tudo. Amo muito a senhora!

Aos meus estimados Padrinhos, que sempre considerei, também, meus pais, Dué e Edite, por todas as vezes que me ajudaram e pelas vezes em que uma atitude de vocês acalmaram meu coração, os senhores, sem dúvida, têm grande parcela de contribuição na realização deste sonho. São exemplos de altruísmo, generosidade, humildade, de pais, irmãos e filhos. Muito obrigada!

À toda a minha família, irmã, cunhado, sobrinho, tios, primos, em especial Anailton Sousa e Carmem Rocha, pelo apoio e amizade durante todos esses anos.

Meus sinceros agradecimentos as amigas de graduação e irmãs que Deus me presenteou, Ana Clara Rocha, Raqueline Cavalcanti, Amanda Fernandes e Jade Cardôso (DBs). Tenho certeza que o nosso encontro não foi por acaso. Deus sabe de tudo. Sem vocês, teria sido muito mais difícil. Amo vocês!

À minha eterna mãe científica, Magnólia de Araújo Campos, sua amizade, conselhos, fé inabalável, compreensão e amor, foram e são essenciais na minha vida e na minha graduação. És um exemplo de profissional e pessoa.

Aos meus amigos de infância, em especial Ícaro Fernando, pela amizade, amor, conselhos e por todos os momentos de alegria e tristeza que compartilhamos durante todos esses anos.

Ao meu orientador, Egberto Santos Carmo, pela orientação exemplar, disponibilidade, compreensão e por toda a contribuição ao meu crescimento acadêmico e profissional.

À professora, Danielly Albuquerque da Costa, pela disponibilização dos extratos utilizados nesta pesquisa e por todas as contribuições nesta e em outras jornadas acadêmicas.

À todos os meus colegas de turma, pelo companheirismo, alegrias, choros e sonhos compartilhados nestes 5 anos. Levarei uma parte de cada um comigo.

À banca, composta pelas professoras Júlia Beatriz Pereira de Souza e Lidiane Pinto Correia, pela disponibilidade e excelentes contribuições nesta pesquisa.

Por fim, a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste sonho e para o início de muitos outros. Meu muito obrigada!

*“Talvez meio caminho andado seja a gente acreditar no que faz. Mas acima de tudo, o que mais nos incentiva, que mais nos valoriza e também mais nos torna conscientes de nossa responsabilidade, é saber que outros creem em nós. E não há palavras que descrevam o que sentimos ao saber dos sacrifícios a que eles se impõe por crerem não apenas em nós, mas também no que cremos.”*

*(Albert Einstein)*

## RESUMO

OLIVEIRA, N. R. INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE *Sida planicaulis* SOBRE LEVEDURAS POTENCIALMENTE PATOGÊNICAS. 2017. 55 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2017.

Nos últimos anos, o aumento drástico da incidência de infecções fúngicas tornou-se um sério problema de saúde pública, apresentando um desafio para os profissionais de saúde. O tratamento não é sempre efetivo, pois muitas vezes os fungos desenvolvem resistência aos antifúngicos disponíveis. Por esta razão, há uma busca contínua por novas substâncias que atuam sobre esses microrganismos, não só eficazes, como também mais seguras. *Sida planicaulis*, popularmente conhecida como vassoura, encontrada na região do Curimataú Paraibano, é uma planta cujo potencial antimicrobiano ainda não foi explorado e dessa forma, carece de investigação. Nesse sentido, essa pesquisa teve como objetivo investigar a possível atividade antifúngica da planta *Sida planicaulis*, no que diz respeito à avaliação de seu extrato etanólico bruto (EEB) e das frações hexânica (HEX), clorofórmica, acetato de etila (AcOEt) e hidroalcoólica (EtOH:H<sub>2</sub>O) sobre leveduras potencialmente patogênicas. Para avaliação do potencial antifúngico dos extratos foi realizada uma triagem microbiológica (*screening*) com base na técnica de difusão em meio sólido. Suspensões preparadas em solução salina a 0,85% (10<sup>6</sup> UFC/mL) foram semeadas em placas contendo Ágar Sabouraud-Dextrose sobre as quais foram distribuídos discos de papel de filtro estéreis embebidos em 10 µL dos extratos vegetais. Realizou-se incubação em estufa bacteriológica a 36°C, por 24/48 horas. Os ensaios foram realizados em triplicata e a atividade antifúngica foi avaliada pela medição dos halos de inibição. As leveduras utilizadas nos ensaios incluíram: *Candida tropicalis*, *Trichosporon inkin* LM-67, *Geotrichum* spp. 57839 e *Rhodotorula* spp. As quatro leveduras testadas apresentaram resistência, não sendo observados halos de inibição. Os resultados obtidos nesta pesquisa nos permitem concluir que os extratos de *Sida planicaulis* não apresentam efeito antifúngico sobre as leveduras avaliadas, contudo, esta foi a primeira investigação de seu potencial antimicrobiano, sendo necessários outros estudos, contra microrganismos diferentes, para assim ter uma melhor noção de sua potencialidade terapêutica.

**Palavras-Chave:** Atividade antifúngica, *Sida planicaulis*, Leveduras.

## ABSTRACT

OLIVEIRA, N. R. INVESTIGATION OF ANTIFUNGAL POTENTIAL OF *Sida planicaulis* ON POTENTIALLY PATHOGENIC YARNS. 2017. 55 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2017.

In recent years, the drastic increase in the incidence of fungal infections has become a serious public health problem, posing a challenge for health professionals. Treatment is not always effective, as fungi often develop resistance to the available antifungal agents. For this reason, there is a continuous search for new substances that act on these microorganisms, not only effective, but also safer. *Sida planicaulis*, popularly known as “broom”, found in the region of Curimataú Paraibano, is a plant whose antimicrobial potential has not yet been explored and thus requires investigation. In this sense, this research aimed to investigate the possible antifungal activity of the plant *Sida planicaulis*, regarding the evaluation of its crude ethanolic extract (CEE) and hexane (HEX), chloroform, ethyl acetate (AcOEt) and hydroalcohol (EtOH:H<sub>2</sub>O) fractions, on potentially pathogenic yeasts. To evaluate the antifungal potential of the extracts, a microbiological screening was performed based on the diffusion technique on solid medium. Suspensions prepared in 0.85% saline solution (10<sup>6</sup> CFU/mL) were seeded on plates containing Sabouraud-Dextrose Agar in which sterile filter paper disks embedded in 10 µL of the plant extracts were distributed. Incubation was carried out in a bacteriological oven at 36°C for 24/48 hours. The assays were performed in triplicate and the antifungal activity was evaluated by measuring the inhibition halos values. The yeasts used in the assays included: *Candida tropicalis*, *Trichosporon inkin* LM-67, *Geotrichum* spp. 57839 and *Rhodotorulla* spp. The four yeasts tested showed resistance, with no inhibition halos observed. This research result allows us to conclude that the extracts of *Sida planicaulis* do not present antifungal effect on the evaluated yeasts, however, this was the first investigation of its antimicrobial potential, being necessary other studies, against different microorganisms, in order to have a better notion of its therapeutic potential.

**Keywords:** Antifungal activity, *Sida planicaulis*, Yeasts.

## LISTAS DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Estruturas microscópicas básicas dos fungos: <b>(a, b, c)</b> : Filamentosos; <b>(d)</b> : Leveduras.....	19
<b>Figura 2</b>	Estruturas leveduriformes observadas ao microscópio óptico provenientes de amostras positivas: <b>(1 e 2)</b> : Blastocónídeos apresentando ou não brotamentos; <b>(3)</b> : Pseudo-hifas de cepas de <i>C. tropicalis</i> e de <i>C. albicans</i> <b>(4)</b> .....	21
<b>Figura 3</b>	Representação de Infecções fúngicas superficiais <b>(A)</b> , subcutâneas <b>(B)</b> , sistêmicas ou profundas <b>(C)</b> . A. Candidíase oral; B. Esporotricose; C. Paracoccidioidomicose.....	23
<b>Figura 4</b>	Provas fisiológicas para identificação dos principais gêneros e espécies de leveduras.....	28
<b>Figura 5</b>	Alvos de medicamentos antifúngicos.....	29
<b>Figura 6</b>	Fórmula estrutural da Anfotericina B.....	30
<b>Figura 7</b>	Fórmula estrutural da Flucitosina.....	30
<b>Figura 8</b>	Representação do núcleo azólico.....	31
<b>Figura 9</b>	Fórmulas estruturais de antifúngicos azóis.....	32
<b>Figura 10</b>	Mecanismos moleculares pelos quais a célula microbiana pode desenvolver resistência.....	33
<b>Figura 11</b>	<i>Sida planicaulis</i> .....	35
<b>Figura 12</b>	Extrato bruto e fases.....	38
<b>Figura 13</b>	Soluções preparadas contendo extrato, água destilada e Tween 80 ou DMSO.....	38
<b>Figura 14</b>	Cepas fúngicas utilizadas nos ensaios microbiológicos.....	39
<b>Figura 15</b>	Representação da preparação do inóculo de <i>Rhodotorula</i> spp.....	40
<b>Figura 16</b>	Representação da metodologia de Triagem Microbiológica.....	41
<b>Figura 17</b>	Ausência de atividade antifúngica da fase hidroalcoólica de <i>Sida planicaulis</i> evidenciada pela ausência de halos de inibição e presença de crescimento das leveduras avaliadas: <b>(A)</b> <i>Trichosporon inkin</i> ; <b>(B)</b> <i>Candida tropicalis</i> .....	43

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

<b>Quadro 1</b>	Provas bioquímicas e enzimáticas para identificação das principais leveduras de interesse clínico.....	27
<b>Tabela 1</b>	Resultados do <i>screening</i> de atividade antifúngica do EEB e fases do extrato da planta <i>Sida planicaulis</i> .....	42

## LISTA DE AVREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

<b>%</b>	Porcentagem
<b>°C</b>	Graus Celsius
<b>5 – FC</b>	5 – Fluorocitosina
<b>µg</b>	Micrograma
<b>µg/mL</b>	Micrograma por Mililitro
<b>µL</b>	Microlitro
<b>mg/kg/dia</b>	Miligrama/Quilograma/Dia
<b>p/v</b>	Peso/Volume
<b>AcOEt</b>	Acetato de etila
<b>AIDS</b>	Síndrome da Imunodeficiência Humana
<b>ASD</b>	Ágar Sabouraud Dextrose
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
<b>C.</b>	<i>Candida</i>
<b>CES</b>	Centro de Educação e Saúde
<b>CFM</b>	Concentração Fungicida Mínima
<b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b>	Diclorometânico
<b>CIM</b>	Concentração Inibitória Mínima
<b>DMSO</b>	Dimetilsufóxido
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>EEB</b>	Extrato Etanólico Bruto
<b>EtOH: H<sub>2</sub>O</b>	Hidroalcoólica
<b>g</b>	Gramas
<b>h</b>	Horas
<b>HEX</b>	Hexânica

<b>HIV</b>	Vírus da Imunodeficiência Humana
<b>IF</b>	Infecções Fúngicas
<b>LM</b>	Laboratório de Micologia
<b>mm</b>	Mililitro
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>PIVIC</b>	Programa Institucional de Voluntários de Iniciação Científica
<b>RNA</b>	Ácido Ribonucléico
<i>Sida</i>	<i>Sida</i>
<b>UFCG</b>	Universidade Federal de Campina Grande
<b>UFC</b>	Unidade Formadora de Colônia
<b>UFC/mL</b>	Unidade Formadora de Colônia por Mililitro

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>17</b>
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>18</b>
<b>3.1</b>	<b>Fungos.....</b>	<b>18</b>
<b>3.2</b>	<b>Leveduras.....</b>	<b>20</b>
<b>3.3</b>	<b>Manifestações Clínicas.....</b>	<b>22</b>
<b>3.4</b>	<b>Epidemiologia.....</b>	<b>24</b>
<b>3.5</b>	<b>Diagnóstico Laboratorial.....</b>	<b>25</b>
<b>3.6</b>	<b>Tratamento.....</b>	<b>28</b>
3.6.1	Anfotericina B.....	29
3.6.2	Flucitosina.....	30
3.6.3	Derivados azólicos.....	31
<b>3.7</b>	<b>Resistência aos Antifúngicos.....</b>	<b>32</b>
<b>3.8</b>	<b>Considerações sobre o gênero <i>Sida</i>.....</b>	<b>34</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>37</b>
<b>4.1</b>	<b>Local de trabalho.....</b>	<b>37</b>
<b>4.2</b>	<b>Produtos Naturais.....</b>	<b>37</b>
<b>4.3</b>	<b>Fungos.....</b>	<b>38</b>
<b>4.4</b>	<b>Meio de cultura.....</b>	<b>39</b>
<b>4.5</b>	<b>Inóculo.....</b>	<b>39</b>
<b>4.6</b>	<b>Atividade antifúngica <i>in vitro</i>.....</b>	<b>40</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>42</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>45</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>46</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a incidência de micoses têm aumentado drasticamente e se tornado um sério problema de saúde pública, o que se deve ao crescente número de pacientes com imunodeficiências inatas ou adquiridas (REX; WALSH; ANAISSIE, 1997; MENCACCI et al., 2000). Outro fator que contribui é o uso crescente de terapia com antibióticos de largo espectro (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014) apresentando um grande desafio para os profissionais da saúde.

Segundo Fenner et al. (2006) *Epidermophyton*, *Microsporum*, *Trichophyton*, *Paracoccidioides*, *Histoplasma* ou os fungos patógenos oportunistas *Candida albicans*, *C. krusei*, *Cryptococcus neoformans* são os principais fungos responsáveis pelo estabelecimento de uma infecção fúngica.

Associações de espécies de *Candida* spp. tem sido feitas com infecções fúngicas superficiais e sistêmicas, sendo possível seu isolamento em até 60% da cavidade oral de adultos, estando *C. albicans* e *C. tropicalis* entre as mais preponderantes (MARSH; MATIN, 2005). No ambiente hospitalar, as micoses causadas pelo gênero *Candida* podem representar 15% de todos os processos de natureza infecciosa (EGGIMANN; GARBINO; PITTET, 2003).

Em um estudo multicêntrico recente, realizado com quatorze países na Europa para verificar a prevalência de candidose invasiva em pacientes admitidos em unidade de terapia intensiva, observou-se que para cada mil admissões nove exibiam essa micose, quando se tratava de pacientes que haviam sido submetidos à cirurgia, a taxa de mortalidade era de 38,8% (KLINGSPOR et al., 2015).

Em detrimento da resistência desenvolvida pelos fungos aos antifúngicos comercializados, o tratamento das micoses não é sempre efetivo, e esse problema é exacerbado pelas incontáveis reações adversas que estes fármacos podem apresentar. Em vista disso, há uma busca constante por novas substâncias que apresentem ação antifúngica mais potente e segura (ZACCHINO, 2001).

Estima-se que o Brasil possua mais de 20% do número total de plantas do mundo, sendo o país com a mais variada flora do planeta, possuindo um número superior a 55 mil espécies descritas, o que corresponde a 22% do total mundial (BRASIL, 2006). Sendo essa biodiversidade seguida por uma vasta aprovação da utilização de plantas medicinais e do conhecimento etnobotânico tradicional associado (RODRIGUES, 2006). Sendo um país de carácter tropical, suas espécies vegetais produzem de três a quatro vezes mais metabólitos ativos que as plantas de regiões onde o clima predominante é o temperado. Sendo assim, as espécies

vegetais brasileiras assumem grande significância na obtenção de fontes naturais de princípios ativos com potencial atividade biológica, possibilitando sua utilização no tratamento dessas enfermidades (CAVALCANTI et al., 2012).

Por exibirem diferentes propriedades terapêuticas e relatos de uso, as espécies do gênero *Sida* vêm sendo vastamente estudadas (MOURA, 2010). Inserida na família Malvaceae, *Sida* é um gênero botânico pertencente à ordem Malvales e está constituída por aproximadamente 243 gêneros e 4225 espécies (STEVENS, 2003). Apresentam-se normalmente, como ervas, subarbustos, arbustos e raramente árvores (BARACHO, 1998). Sua expressividade no Brasil se restringe a 35 gêneros e aproximadamente 400 espécies com predominância nas regiões Nordeste e Sul e, em menor dimensão, nas regiões Norte, Centro-Oeste e Sudeste (BARROSO, 1991; SILVA et al., 2006). As espécies *Sida acuta* Burn e *Sida rhombifolia*, tiveram sua atividade antimicrobiana relatada por Lopes et al. (2008). Nos trabalhos de Nascimento (2012) e Rosa (2013), respectivamente, os extratos de *S. santaremnensis* apresentaram atividade antifúngica contra leveduras do gênero *Rodhotorula* e *Sida tuberculata* contra *Candida kruzei*.

Popularmente conhecida como vassoura, *Sida planicaulis*, encontrada na região do Curimataú Paraibano, é uma planta cujo potencial antimicrobiano ainda não foi explorado e dessa forma, a avaliação da possível atividade antifúngica de seus extratos contra fungos leveduriformes, potencialmente patogênicos, carece de investigação.

Levando em consideração a vasta utilização popular de plantas e a carência de comprovação científica, torna-se de suma importância a avaliação e confirmação da atividade antimicrobiana dessa espécie, conferindo assim, segurança na sua utilização, desaconselhando sua aplicação terapêutica caso a inexistência de atividade seja constatada. Além disso, a possibilidade de um extrato vegetal se apresentar como uma potencial alternativa terapêutica no tratamento de micoses causadas por leveduras, como também, a perspectiva do isolamento de substâncias que apresentem eficácia considerável (MENEZES et al., 2009), efeitos colaterais mais amenos e reduzida toxicidade (SILVA, 2012), justificam esta pesquisa.

## 2 OBJETIVO GERAL

- ✓ Investigar a possível atividade antifúngica da planta *Sida planicaulis*, por triagem microbiológica, no que diz respeito à avaliação de seus extratos etanólico bruto, fase hexânica, clorofórmica, acetoetífica e hidroalcoólica sobre as leveduras *Candida tropicalis*, *Trichosporon inkin* LM-67, *Geotrichum* 57839 e *Rhodotorula* spp.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Fungos

Os fungos são seres onipresentes, que se difundem na natureza, através de esporos, que são estruturas de reprodução, por diversos meios, como ar, insetos, água, animais, dentre outros (MISHRA; DUBEY, 1994; NOVAK; ALMEIDA; SANTOS, 2002). Esses microrganismos foram classificados como plantas até 1969 e, mais tarde, inseridos em um reino separado, denominado Fungi. Refere-se a um reino de abundante diversidade, apresentando desde espécies de estrutura simples, que crescem como organismos unicelulares, a espécies de organização complexa, com hifas ramificadas que produzem uma notável diversidade de esporos e outras estruturas reprodutivas (ADAMS, 2004; LEME et al., 2011). Apesar da estimativa de que existam cerca de 1,5 milhão de espécies de fungos, apenas cerca de 74 mil espécies foram descritas (ESPOSITO; AZEVEDO, 2004).

Os fungos de importância médica, implicados nas incidências de micoses, são de dois tipos morfológicos (Figura 1, p. 20): leveduras, que são unicelulares, e bolores ou fungos filamentosos, que são multicelulares (ANVISA, 2004). No entanto, existe um terceiro grupo denominado dimórfico. Esse grupo pode apresentar uma morfologia leveduriforme ou filamentosa, em detrimento da temperatura a qual é submetido, apresentando-se como filamentoso, quando exposto a temperatura ambiente (25-28°C), ou como levedura, na temperatura de 37-39°C (SIDRIM; ROCHA, 2010).

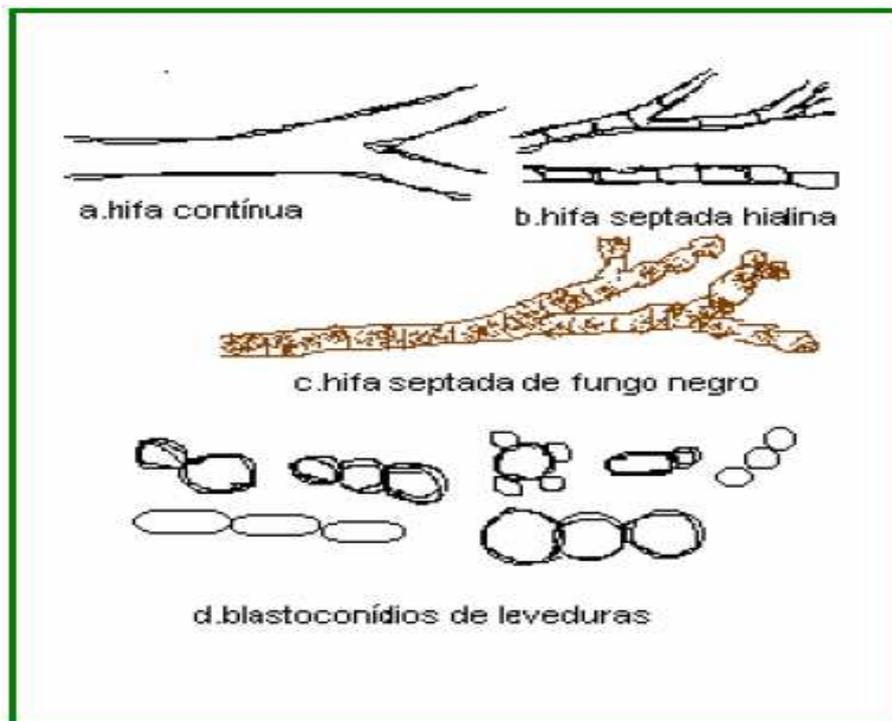
A célula fúngica por apresentar-se, estruturalmente, bem compartimentada, com membrana celular envolvendo os cromossomos e o nucléolo, enquadram-se no grupo dos eucariontes (PRADO, 2007). Constituída basicamente por: membrana, citoplasma com organelas distribuídas aleatoriamente e um núcleo, encarregado de armazenar o material genético (FUKUDA et al., 2009). O desenvolvimento da parede celular, camada externa à membrana, é imprescindível para o desenvolvimento e sobrevivência dos fungos nos diferentes meios em que este pode ser encontrado (PINTO; BARRETO-BERGTER; TABORDA, 2008).

Estação do ano, localização, umidade relativa do ar, entre outros, são alguns dos fatores que interferem no desenvolvimento de um fungo, sendo seu crescimento dividido em duas fases: vegetativa e reprodutiva. Dessa forma, sua estrutura morfológica no estado parasitário difere da apresentada *in vitro* (LEME et al., 2011).

A reprodução fúngica ocorre por meio de esporos, estruturas reprodutivas constituídas de uma ou mais células. E estes podem ser formados assexuadamente, gerados por mitose

(mitósporos) que podem ser dos tipos: conídios, esporângios, clamidósporos ou artrósporos. Partindo das hifas (Figura 1, p. 19), os conídios dão origem a estruturas denominadas conidióforos. Estruturas em forma de saco, chamadas esporângios, por meio de clivagem, convertem seu conteúdo em um ou muitos esporos. Utilizando flagelos, alguns desses esporos podem nadar, sendo denominados zoósporos. São chamados aplanósporos, os esporangióforos imóveis. A formação dos clamidósporos ocorre, quando em alguns fungos, as células das hifas aumentam, ganham uma forma arredondada com uma parede espessa e separam-se. A fragmentação da hifa, em fungos hifais ou gemas em fungos leveduriformes, resulta em artrósporos (ALTERTHUM, 2001; AGRIOS, 2005).

**Figura 1** - Estruturas microscópicas básicas dos fungos: (a, b e c): Filamentosos; (d): Leveduras.



Fonte: ANVISA, 2004.

São seres incapazes de produzir seu próprio alimento, isentos de pigmentos fotossintéticos capazes de transformar a energia luminosa em compostos orgânicos provedores de energia e, por isso, heterotróficos (PRADO, 2007).

Fisiologicamente, se adaptam a condições insuportáveis para a maioria dos microrganismos, podendo crescer em substratos com concentrações elevadas de açúcar, já que são pouco sensíveis a altas pressões osmóticas; suportam pH entre 2,0 e 9,0, sendo que o pH considerado ótimo para a maioria das espécies está em torno de 5,6. Ainda que a faixa de

temperatura considerada ótima para o crescimento da maioria dos microrganismos esteja entre 22 e 30°C, podem se desenvolver, também, numa ampla faixa de temperatura. Existem espécies com crescimento observado em temperaturas entre 35 e 37°C, ou em temperaturas superiores e os chamados psicrófilos, que crescem bem à temperatura de refrigeração (PUTZKE; PUTZKE, 2002; ESPOSITO; AZEVEDO, 2004).

São influenciados por diversos fatores e entre esses a luminosidade, essa interfere no desenvolvimento fúngico atuando na decomposição de substâncias nutritivas ou de modo direto sobre o metabolismo, como, por exemplo, interferindo na biossíntese de pigmentos carotenoides. Quando se trata da atmosfera, o oxigênio e dióxido de carbono apresentam papel fundamental no metabolismo de grande quantidade de espécies fúngicas (SIDRIM; ROCHA, 2010).

A alta produção de propágulos de disseminação é responsável pela eficiência da dispersão fúngica, sendo os esporos, principalmente os de origem assexuada, os mais importantes e são estruturas formadas em alta quantidade nesse processo. Assim como os esporos, fragmentos de micélio vegetativo ou outras estruturas fúngicas, também podem se apresentar como propágulos de disseminação dos fungos e o ar atmosférico como a principal via de disseminação (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

Os fungos podem infectar o organismo de diversas formas e a manifestação dessas infecções podem ser rápidas e passar despercebidas, ou graves e por vezes letais (SOMENZI; RIBEIRO; MENEZES, 2006). A semelhança entre as célula fúngica e a hospedeira se apresenta como um desafio na elaboração de estratégias terapêuticas específicas direcionadas aos fungos que causam essas infecções e que sejam atóxicas para o hospedeiro (SCHAECHTER et al., 2002).

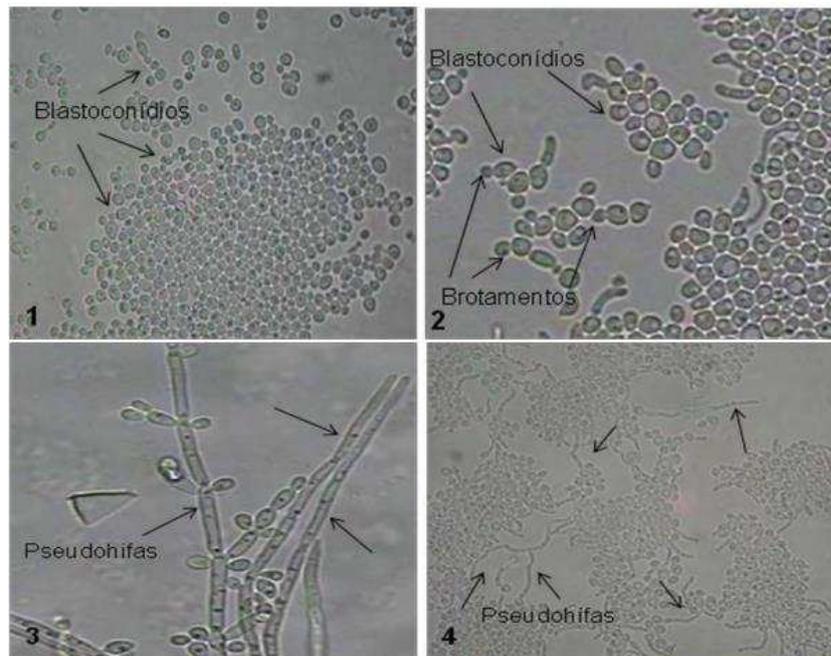
### **3.2 Leveduras**

Denomina-se levedura (Figura 2, p. 21) um subgrupo de *Ascomycetos*, que representam uma subunidade na classificação taxonômica dos fungos, sendo os leveduriformes observados em grande quantidade de espécies fúngicas. Estão inseridos nesse grupo, os fungos que apresentam um único núcleo por célula. Apresentam uma forma de divisão diferenciada, isto é, elas se dividem por brotamento simples, ou por brotamento-fissão, ou, ainda, por divisão binária e assim se diferenciam dos fungos filamentosos (SIDRIM; ROCHA, 2010).

Ainda segundo os autores supracitados, possuem padrão morfológico muito similar, isto é, tanto em parasitismo como nos isolados primários, as leveduras se apresentam arredondadas

ou ovaladas, com raras exceções, não exibindo, assim, estruturas distintas relacionadas à reprodução sexuada ou assexuada. Por este motivo, para sua classificação, faz-se uso da evidenciação dos padrões bioquímicos e enzimáticos.

**Figura 2** - Estruturas leveduriformes observadas ao microscópio óptico provenientes de amostras positivas: **(1 e 2)**: Blastoconídeos apresentando ou não brotamentos; **(3)**: Pseudo-hifas de cepas de *C. tropicalis* e de *C. albicans* **(4)**.



Fonte: MENDES, 2011.

São microrganismos capazes de colonizar humanos e animais, entretanto, frente à perda do equilíbrio parasito-hospedeiro, ocasionam quadros infecciosos que podem se manifestar sob a forma localizada ou disseminada (ANVISA, 2004). Em geral, suas colônias se apresentam glabras, de coloração branca ou bege (SIDRIM; ROCHA, 2010), de superfície lisa, pastosas ou cremosas (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

Nos meios de cultura usuais para isolamento fúngico não é possível distinguir macroscopicamente a maioria das leveduras. Entretanto, algumas espécies apresentam características peculiares, como a *Rhodotorula* spp., que podem exibir colônias de coloração alaranjada; *Cryptococcus* spp., em virtude da presença da cápsula, em geral, colônias mucoides; enquanto as de *Trichosporon* spp., aspecto seco e superfície rugosa, e as demáceas ostentam colônias de colorações negras (SIDRIM; ROCHA, 2010).

Algumas leveduras apresentam pseudo-hifas (Figura 2, p. 21), que são formadas, com frequência, no decurso do brotamento simples, que ainda que por motivos não bem esclarecidos, autores associam à virulência da espécie (SIDRIM; ROCHA, 2010).

Denominadas leveduroses ou micoses mucocutâneas, as infecções fúngicas causadas por estes patógenos, podem ser de fonte endógena, quando o fungo pertence a microbiota normal do hospedeiro ou exógena, quando carregado por outros indivíduos (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

*Candida tropicalis*, *Trichosporon inkin*, *Geotrichum* spp. e *Rhodotorula* spp., são exemplos de leveduras usualmente envolvidas em infecções micóticas. A primeira é reconhecida como a segunda espécie mais isolada, implicada em 4% a 24% dos casos de candidemia (OLLIVIER et al., 2008; MENEZES, 2009). A segunda é o agente etiológico clássico de uma micose superficial estrita, a piedra branca (SIDRIM; ROCHA, 2010). Quando se trata do gênero *Geotrichum*, algumas espécies podem estar relacionadas às patologias do sistema respiratório e do trato-gastrointestinal de humanos, ocasionando infecções oportunistas, denominadas de Geotricose (GENTE et al., 2002; HOOG; SMITH, 2004; ALPER; FRENETTE; LABRIE, 2011). Por último, as espécies do gênero *Rhodotorula* que frequentemente são associadas com infecções no sistema nervoso central (meningite e ventriculites), oculares (endoftalmite e ceratite), endocardites e peritonites (TUON; COSTA, 2008).

### 3.3 Manifestações Clínicas

São denominadas micoses, um vasto espectro de infecções causadas por fungos leveduriformes ou filamentosos que acometem humanos e animais. São diversas as consequências destas infecções fúngicas (IF) nos hospedeiros. Sendo sua gravidade determinada pela espécie do fungo envolvida e pelo sítio anatômico acometido (BLANCO; GARCIA, 2008). Esses seres são responsáveis por grandes prejuízos à saúde, podendo nos casos mais graves ocasionar morte (BURLAUD et al., 2010).

As micoses são classificadas em: superficiais (Figura 3 A, p. 23), localizadas na pele e anexos; subcutâneas (Figura 3 B, p. 23), acometendo pele e tecidos subcutâneos; sistêmicas ou profundas (Figura 3 C, p. 23) agredindo, principalmente, órgãos internos e vísceras, podendo atingir muitos tecidos e órgãos diferentes. As infecções fúngicas superficiais incluem as micoses superficiais estritas, as dermatofitoses, as hialo-hifomicoses e feo-hifomicoses e as micoses mucocutâneas ou leveduroses. Os fungos implicados nas micoses subcutâneas, são

frequentemente isolados do solo ou vegetais, sendo essas infecções, em geral, adquiridas por traumatismos com materiais contaminados, como vegetais e madeiras, podendo, também, ser transmitidas por picadas de inseto e mordedura de animais. No que concerne as sistêmicas, essas são originadas principalmente pela inalação de propágulos fúngicos, transportados ao solo pelos ventos. As espécies responsáveis pelas micoses profundas têm seu hábitat sobretudo no solo (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

**Figura 3** - Representação de Infecções fúngicas superficiais (A), subcutâneas (B), sistêmicas ou profundas (C).

A. Candidíase oral



Fonte: PINHEIRO, 2014.

B. Esporotricose



Fonte: SILVA, 2015.

C. Paracoccidioidomicose



Fonte: MARQUES, 2003.

As IF superficiais são as mais comuns, afetando pele, pelos, cabelo, as unhas, os órgãos genitais e a mucosa oral (SOMENZI; RIBEIRO; MENEZES, 2006). Os fungos crescem lentamente e, por isso, as micoses são geralmente crônicas, de longa duração (TORTORA; FUNKE; CASE, 2002; TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

As leveduras do gênero *Candida* causam a chamada candidíase, também denominada candidose. O agente causal mais frequente é a *Candida albicans*, entretanto, outras espécies têm sido identificadas como: *Candida tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. Kefyr*, *C. guilliermondii* e *C. lusitanae* (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008). Essa micose pode atingir a superfície cutânea ou membranas mucosas e ocasionar onicomicose, candidose oral, intertrigo, paroníquia, candidose vaginal entre outras manifestações (BRASIL, 2004).

Também chamada de estomatite cremosa ou sapinho, a candidíase da mucosa oral (Figura 3 A, p. 23), apresenta-se como placas brancas, isoladas ou confluentes, aderentes à mucosa, com aspecto membranoso, por vezes rodeadas por halo eritematoso. Sua incidência é maior em pacientes gravemente enfermos e em recém-nascidos na ocasião em que é

correlacionada com a candidíase da mucosa vaginal da mãe. Quando presentes em pacientes inseridos nos grupos de maior risco, a candidíase oral é considerada um indicador da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) (TRABULSI; ALTHERTUM, 2008).

Nas últimas duas décadas, leveduras antes consideradas não-patogênicas, emergiram como agentes etiológicos oportunistas principalmente em pacientes imunocomprometidos, como as leveduras do gênero *Rhodotorula* (TUON; COSTA, 2008; MICELI; DÍAZ; LEE, 2011).

Enfermos portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV), ou que apresentam defesas imunitárias comprometidas, representam grupos que frequentemente manifestam micoses graves. Nessas condições, os fungos podem atingir os órgãos internos, expandir-se ao sangue e se tornar fatais (SOMENZI; RIBEIRO; MENEZES, 2006).

As micoses não constituem doenças de notificação compulsória, dessa forma, não é possível se ter um conhecimento preciso da dimensão do problema. Evidenciando a necessidade imediata da realização periódica de estudos que forneçam uma visão mais fidedigna da frequência dessas infecções fúngicas, de seus agentes etiológicos, em razão dos aspectos socioeconômicos, geográficos e climáticos, como medida de prevenção epidemiológica (ARAÚJO et al., 2012).

### 3.4 Epidemiologia

Nesta última década, os fungos têm sido usualmente responsáveis pela incidência de micoses. Segundo a organização mundial de saúde (OMS), estão inseridos no grupo dos 5 parasitas envolvidos nas 20 principais causas de mortes de origem microbiana no mundo (TORTORA et al., 2002).

*Candida* e *Criptococcus* são gêneros de leveduras apontadas como as mais frequentemente envolvidas na causa de infecções micóticas (LACAZ; PORTO; MARTINS, 1991; ANAISSE, 1992; SIDRIM; ROCHA, 2010). *Candida* spp. foi notificada como o 6º patógeno nosocomial e a 4ª causa mais frequente de infecções de corrente sanguínea contraídas em hospitais, pelo sistema de vigilância operante de hospitais norte-americanos (ANVISA, 2004).

Colombo e colaboradores (2003), constataram padrões de micoses por leveduras no Brasil e evidenciaram elevada incidência de candidemia em hospitais de alta complexidade em um estudo multicêntrico realizado durante dez anos. Sendo possível a partir desse, determinar a frequência de infecções micóticas causadas por espécies específicas, observando que as

infecções por *C. glabrata* são incomuns no país, enquanto *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* são preponderantes (70%).

Em pacientes com câncer e em aproximadamente 25% dos transplantados (transplante de medula óssea), candidíase sistêmica é relatada em 20% a 40% (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

A maioria das infecções por *Candida* spp., cerca de 95%, em indivíduos imunocomprometidos são ocasionadas por apenas 5 espécies: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*. Sendo *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii* e *C. rugosa*, espécies responsáveis por uma pequena parcela dessas (BEDOUT; GÓMEZ, 2010; SARDI et al., 2013; YAPAR, 2014).

Um estudo realizado por Wingeter et al. (2007) observou em pacientes portadores de HIV de ambos os sexos, que grande quantidade, 58% desses, exibiam culturas positivas para *Candida* spp., com faixa etária variando de 19 a 69 anos. Nessa pesquisa, a espécie predominante foi a *Candida albicans* (93%), sendo *Candida tropicalis* e *Candida glabrata*, responsáveis pelos 7% restantes.

*Candida* é considerada, sem dúvidas, o gênero mais importante devido à alta frequência com que acomete a população, no entanto, existem outros gêneros de leveduras que podem causar infecções fúngicas no ambiente hospitalar, pele e trato gastrointestinal dos pacientes e funcionários, onde *Pichia (Hansenula)*, *Rhodotorula* e *Trichosporon* são apontados como os principais gêneros (ANVISA, 2004).

Estudos de ordem epidemiológica, descrevem as leveduras do gênero *Rhodotorula* como agentes desencadeadores em 0,5% a 2,3% dos casos de fungemia, sendo a administração indiscriminada de antibióticos, uso prolongado de nutrição parenteral, devido aos casos de desnutrição secundária em doenças crônicas, os principais fatores envolvidos, chegando a 14,4% a mortalidade causada nos achados de fungemias por *Rhodotorula* spp. (TUON; COSTA, 2008).

### **3.5 Diagnóstico Laboratorial**

As micoses têm o seu diagnóstico microbiológico feito através da verificação do fungo no material clínico, em preparações microscópicas, exame histopatológico e cultivos complementados por provas indiretas, tais como testes intradérmicos, pesquisa de anticorpos séricos e de antígenos circulantes (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008). Diversos são os requisitos clínicos e, geralmente, são apenas presumíveis, necessitando muitas vezes da

confirmação em laboratório para que se tenha um diagnóstico definitivo (SIDRIM; ROCHA 2010).

A microscopia direta é o método mais usual na grande maioria dos casos clínicos, e o material clínico para exame microscópico depende do tipo da infecção micótica. Sua frequente utilização é justificada pela rapidez e sensibilidade do método, permitindo a visualização fúngica e, em muitas situações, sua identificação. De forma geral, o material a ser analisado é sujeito à clarificação por solução de hidróxido de potássio para exame microscópico. Outras vantagens da técnica são seu baixo custo, eficácia, reprodutibilidade, demandando, porém, profissional bem treinado (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

Ainda segundo os autores supramencionados, características morfológicas, comportamento bioquímico e estruturas antigênicas são analisadas na identificação dos fungos. Alguns exemplos são os órgãos de reprodução fúngica, muito úteis na sua identificação, são muito vulneráveis, sendo frequentemente indispensável recorrer a técnicas específicas de cultura para que seu crescimento, desenvolvimento e manutenção ocorram adequadamente. A cultura fúngica é, na maioria das vezes, indispensável para o diagnóstico específico de grande maioria dos fungos, sendo o meio de cultura mais utilizado o Ágar Sabouraud Dextrose (ASD).

No diagnóstico de micoses causadas por leveduras, ao se observar o crescimento de colônias leveduriformes, deve-se proceder ao exame microscópico da mesma, fazendo uso de preparações com solução salina, lactofenol azul de algodão ou coloração de Gram (SIDRIM; ROCHA, 2010).

Os métodos de identificação de leveduras diferem dos de fungos filamentosos. Quando trata-se das suas características morfológicas, aspectos macroscópicos da colônia e microscópicos da levedura são considerados. Deve ser investigada a presença de cápsula, ascos, blastoconídios, clamidoconídios, artroconídios, hifas, pseudo-hifas e formação de tubo germinativo por meio de metodologia específica, e não somente pela simples visualização do fungo no isolamento primário. A análise dos critérios bioquímicos (Quadro 1, p. 27) são indispensáveis na identificação das leveduras. E assim, avalia-se a faculdade que as leveduras possuem de fazer uso de carboidratos e compostos nitrogenados como origem de carbono e nitrogênio, respectivamente (assimilação de carboidratos e nitrogênio ou auxograma) e de fermentar também alguns carboidratos (fermentação de carboidratos ou zimograma). Ademais, provas enzimáticas: produção de urease ou fenoxidase pelas leveduras estudadas, podem ser utilizadas para sua detecção (SIDRIM; ROCHA, 2010).

**Quadro 1** - Provas bioquímicas e enzimáticas para identificação das principais leveduras de interesse clínico.

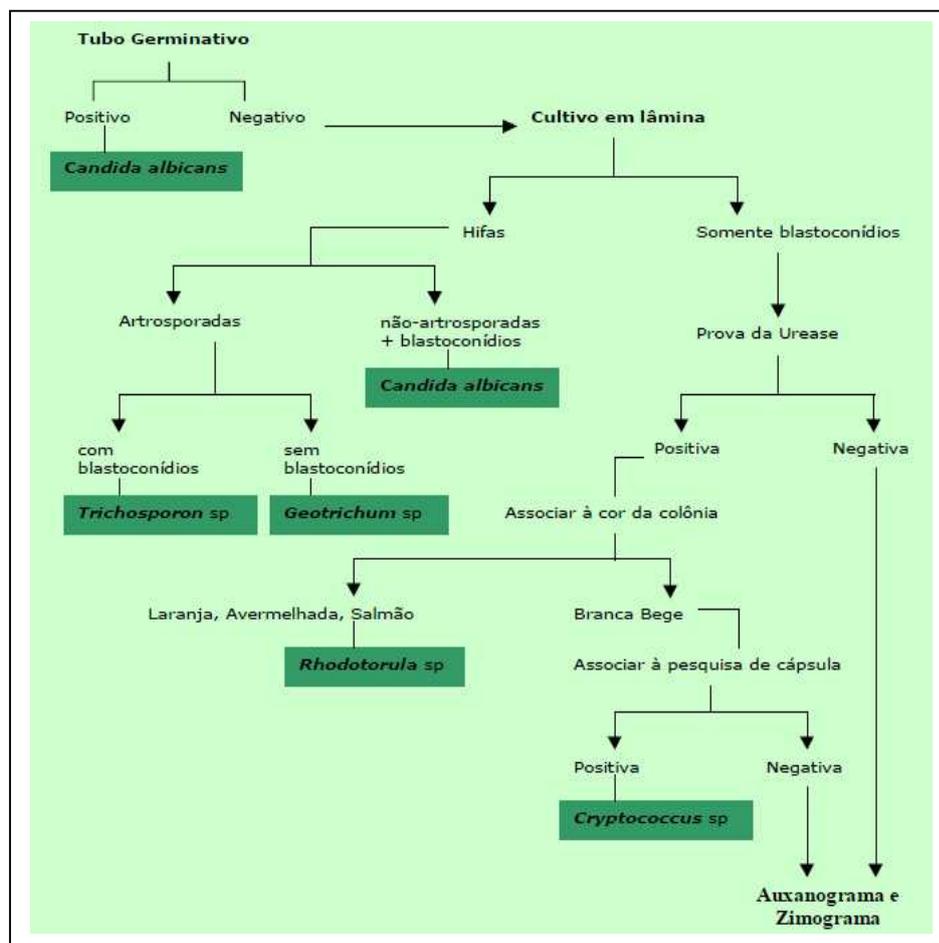
Levedura	Tg	Cultivo em lâmina		Ur	Assimilação									Fermentação					
		Hifa	Ar		Sa	Ma	La	Ce	Tr	Ra	X	I	NO <sub>3</sub>	Gl	Sa	Ma	La	Ra	Tr
<i>C. albicans</i>	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	V
<i>C. tropicalis</i>	-	+	-	-	+	+	-	V	+	+	+	-	-	+	V	+	-	-	+
<i>C. parapsilosis</i>	-	+	-	-	+	+	-	V	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	V
<i>C. krusei</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	V
<i>C. glabrata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
<i>C. neoformans</i>	-	-	-	+	+	+	-	V	+	V	+	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Geotrichum</i>	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	V	-	-	-	-	-
<i>Trichosporon</i>	-	+	+	V	+	+	+	+	V	V	+	V	-	-	-	-	-	-	-
<i>Rhodotorula sp</i>	-	-	-	+	+	V	-	V	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Saccharomyces</i>	-	-	-	-	+	+	-	-	V	+	-	-	-	+	+	+	-	+	V

**Tg:** tubo germinativo, **Ar:** artrósporo, **Ur:** urease, **Sa:** sacarose, **Ma:** maltose, **La:** lactose, **Ce:** celubiose, **Tr:** trealose, **Ra:** rafinose, **X:** xilose, **I:** inositol, **NO<sub>3</sub>:** nitrato, **Gl:** glicose, +: pos, -: neg, **V:** variável.

**Fonte:** ANVISA, 2004.

A identificação de leveduras específicas como *Candida albicans* pode ser feita através de provas fisiológicas (Figura 4, p. 28) comuns e simples como: prova do tubo germinativo e filamentação em cultivo em lâmina. Nessas é possível avaliar a capacidade de produção de hifas hialinas ramificadas que podem se fragmentar em esporos, chamados artroconídios. Essas hifas estão presentes nos gêneros *Geotrichum* e *Trichosporon*. Entretanto, se a levedura apresentar hifas hialinas não fragmentadas, provavelmente, essa pertence ao gênero *Candida* e, se visualizadas formação de clamidósporos característicos, é *Candida albicans*. Leveduras do gênero *Rhodotorula*, que como em regra, exibem colônias com pigmento avermelhado ou salmão, são positivas na prova enzimática da urease, assim como outros gêneros, incluindo *Candida*, ainda assim, outras características podem ser utilizadas na sua identificação (ANVISA, 2004).

**Figura 4** - Provas fisiológicas para identificação dos principais gêneros e espécies de leveduras.



Fonte: ANVISA, 2004.

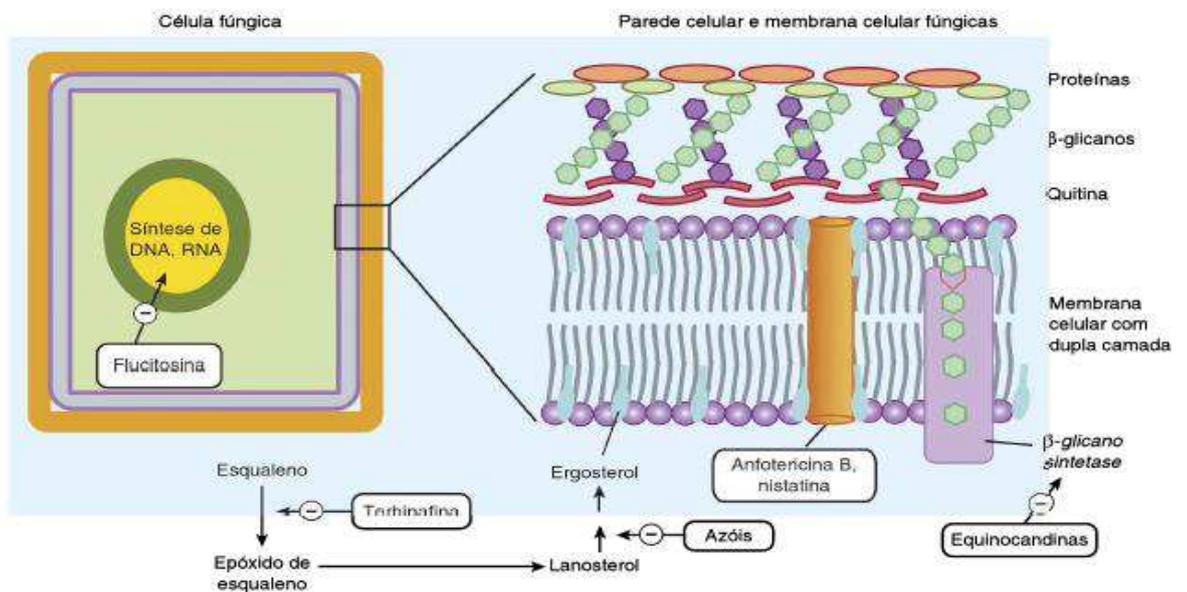
### 3.6 Tratamento

O arsenal terapêutico de fármacos antifúngicos atualmente disponível se situa nas seguintes categorias: fármacos sistêmicos (orais ou parenterais) para infecções sistêmicas ou superficiais e fármacos de uso tópico para infecções superficiais (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014).

De acordo com o seu modo de ação (Figura 5, p. 29) os antifúngicos, de forma geral, podem ser reunidos em quatro classes: os polienos, que causam alterações da membrana fúngica por interagirem com o ergosterol, exemplos destes fármacos são a nistatina e anfotericina B e as formulações lipídicas; os inibidores da síntese do ergosterol, principal componente da membrana celular dos fungos, representantes deste grupo são os derivados azólicos, imidazólicos e triazólicos (cetoconazol, fluconazol, voriconazol) e atualmente o posaconazol; os inibidores da síntese de DNA e RNA (análogos das pirimidinas), onde se encontra inserida

a flucitosina (pró-fármaco) que é convertida 5-fluorocitosina (5-FC) pelas células fúngicas e as equinocandinas (casposfungina, anidulafungina e micafungina), as quais inibem a síntese do 1,3- $\beta$ -D-glucano, principal integrante da parede celular fúngica (SANGLARD; ODDS, 2002; BERGOLD; GEORGIADIS, 2004).

**Figura 5** - Alvos de medicamentos antifúngicos.



**Fonte:** KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014.

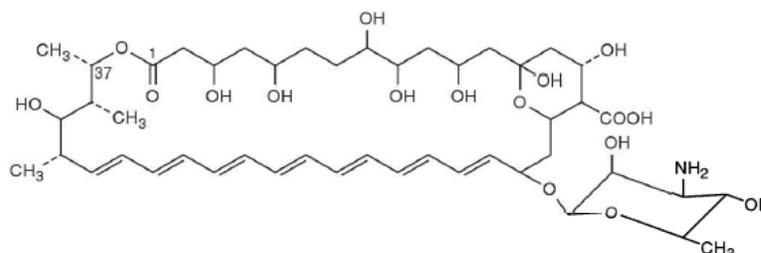
Contudo, em consequência da limitada quantidade de fármacos antifúngicos sistêmicos, elevada toxicidade destes e aumento da resistência antifúngica apresentada por algumas espécies, o tratamento da candidíase não tem se mostrado efetivo e, abrangente em sua totalidade (KIRAZ; YASEMIN, 2011; KHAN; MALIK; AHMAD, 2012). O que justifica e evidencia a necessidade de tratamentos alternativos e novas fontes de moléculas bioativas com atividade antimicótica contra essas e outras leveduras.

### 3.6.1 Anfotericina B

Este fármaco (Figura 6, p. 30) possui uma importante atividade antifúngica clínica contra as leveduras *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans*, *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii*, *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides braziliensis*, *Aspergillus* spp., *Penicillium marneffeii* e contra os responsáveis pela

mucormicose. Entretanto, alguns isolados de *Candida lusitanae* já se mostram relativamente resistentes (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANM, 2012).

**Figura 6** - Fórmula estrutural da Anfotericina B.

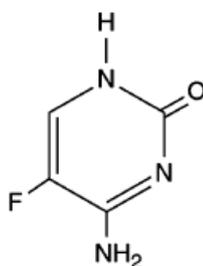


**Fonte:** KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014.

### 3.6.2 Flucitosina

A flucitosina (5-FC) (Figura 7, p. 30) é utilizada, geralmente, em associação com a Anfotericina B contra um reduzido espectro de infecções micóticas, como exemplo, no tratamento de algumas micoses profundas, como aquelas causadas por *Cryptococcus neoformans* e *Candida* spp. (SIDRIM; ROCHA, 2010). Não sendo administrada isoladamente em detrimento da sua sinergia observada com outros fármacos e para evitar o surgimento da resistência secundária (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014). Administrada na sua apresentação oral nas concentrações de 50 a 150 mg/kg/dia, em quatro doses fracionadas a intervalos de 6 h. Devendo sua posologia ser ajustada na redução da função renal (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANM, 2012).

**Figura 7** - Fórmula estrutural da Flucitosina.

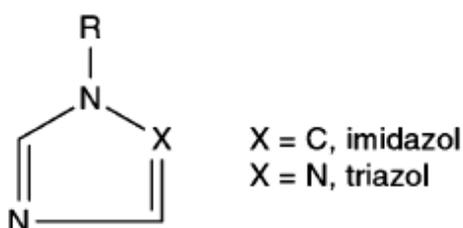


**Fonte:** KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014.

### 3.6.3 Derivados azólicos

Representam um grupo de compostos sintéticos, com estruturas químicas semelhantes e com amplo espectro de atividade antifúngica (SIDRIM; ROCHA, 2010). Podem ser classificados de acordo com o número de átomos de nitrogênio no seu anel azólico de cinco membros (Figura 8, p. 31) em imidazóis ou triazóis (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014).

**Figura 8** - Representação do núcleo azólico.



**Fonte:** KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014.

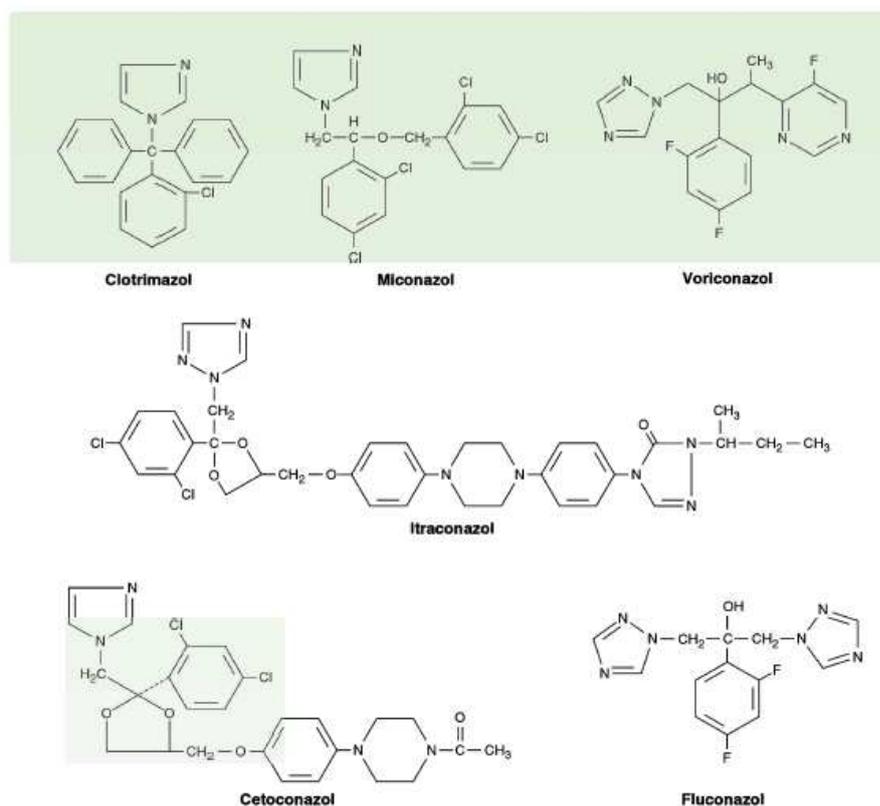
Clotrimazol, miconazol, econazol, bifonazol, isoconazol, tioconazol, oxiconazol, sertaconazol, terconazol e cetoconazol (Figura 9, p. 32) são os principais derivados imidazólicos em uso clínico. Apenas o cetoconazol e o miconazol, dentre esses, são administrados pelas vias tópicas e parenteral, sendo os demais imidazóis empregados apenas pela via tópica. Já os derivados triazólicos, por sua vez, são utilizados tanto por via oral como por via intravenosa (SIDRIM; ROCHA, 2010).

Possuem largo espectro de ação, sendo empregados contra *Candida* spp. e *Cryptococcus neoformans* (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014).

Outro fármaco utilizado no tratamento de candidíase, é o miconazol, apresentando potente atividade antifúngica contra dermatófitos e *Candida* spp., especialmente *Candida albicans*. Clotrimazol, econazol, bifonazol, isoconazol, oxiconazol, sertaconazol e outros (imidazóis tópicos) possuem atividade restrita às micoses superficiais, do tipo dermatofitoses, candidíase e pitíriase versicolor (SIDRIM; ROCHA, 2010). Destaca-se o fluconazol no tratamento e profilaxia secundária da meningite criptocócica, além disso, reconhecido como o agente mais empregado no tratamento da candidíase mucocutânea (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014). No tratamento de candidíase vulvovaginal, ceratite micótica, dermatofitoses,

onicomicose e pitiríase versicolor, o itroconazol pode ser administrado (SIDRIM; ROCHA, 2010).

**Figura 9** - Fórmulas estruturais de antifúngicos azóis.



Fonte: KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014.

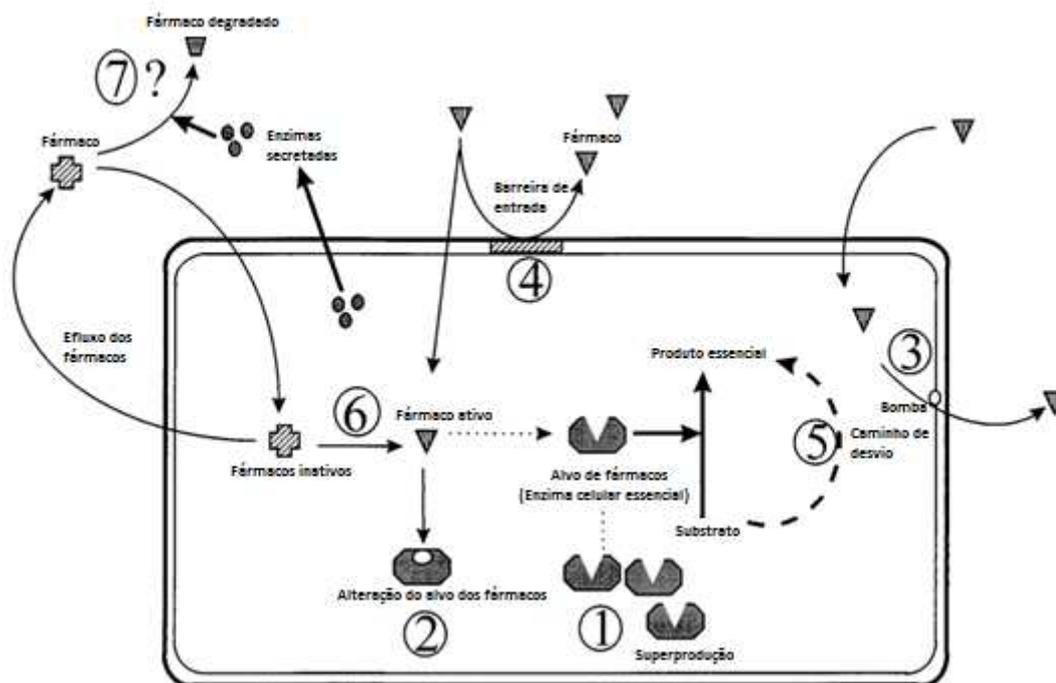
### 3.7 Resistência aos Antifúngicos

A incidência de infecções fúngicas teve um aumento mundial nos últimos anos, assim como, os relatos de resistência de algumas espécies de fungos leveduriformes frente à ação dos antifúngicos disponíveis, o que se deve, em grande parte, ao crescimento da sobrevida da população imunodeprimida, automedicação e uso de antimicrobianos de largo espectro.

Quando se trata dos mecanismos moleculares, são diversos os envolvidos na resistência aos antifúngicos. Alguns eventos podem desencadear essa resistência como as alterações do sítio alvo das moléculas com ação terapêutica, “sobre expressão” da molécula alvo, redução da quantidade intracelular do fármaco (efluxo), extravio das proteínas transmembranares (porinas), modificações na biossíntese de esteróis e produção de enzimas fúngicas capazes de

degradar as drogas administradas (Figura 10, p. 33) (GHANNOUM; RICE, 1999; SANGLARD; ODDS, 2002).

**Figura 10** - Mecanismos moleculares pelos quais a célula microbiana pode desenvolver resistência.



(1) “Sobre expressão” da enzima-alvo, de forma que o fármaco não impossibilita a reação bioquímica por completo; (2) Alteração do alvo do fármaco para que esse não consiga se ligar; (3) A partir de uma bomba de efluxo o fármaco é expulso; (4) Impedimento da entrada do fármaco na membrana celular/ nível da parede celular; (5) A célula tem um caminho de desvio que compensa a perda de função da enzima-alvo em razão da atividade do fármaco; (6) Inibição de “enzimas” com ação conversora de fármacos inativos nas suas formas ativa; (7) Enzimas com ação de degradação de fármaco são secretadas pela célula para o meio extracelular.

**Fonte:** GRANNOUM; RICE, 1999.

A capacidade de produção de biofilmes nas superfícies, pelos fungos patogênicos, foi outra possibilidade estudada para o surgimento de resistência fúngica. Estes representam uma possível barreira à eficiente penetração dos fármacos com ação antifúngica (SANGLARD et al., 2003).

Casos de resistência medicamentosa da levedura *C. albicans* frente a derivados azólicos foram relatados em pacientes HIV positivos diagnosticados com candidose oral (REX et al., 2000).

Algumas espécies de *Candida* spp. apresentam resistência intrínseca relatada, enquanto outras adquiridas, como exemplo a espécie *C. krusei* que apresenta resistência intrínseca ao fluconazol, ao passo que *C. tropicalis* e *C. glabrata*, resistência adquirida (TAN et al., 2008).

A compreensão dos meios responsáveis pela conferência aos fungos de resistência são essenciais para o desenvolvimento de modificações estruturais nos antifúngicos disponíveis no mercado. É essencial salientar que a baixa heterogeneidade, em se tratando de classes de antifúngicos, possivelmente, sugere a existência de disparidades ainda não investigadas entre o patógeno e a célula hospedeira, que podem ser úteis no planejamento e desenvolvimento de novos fármacos que possuam a habilidade de atuar em funções vitais da célula fúngica (PERES et al., 2010).

Diante da problemática antecipadamente relatada, evidencia-se a urgente necessidade de se introduzir novos agentes antifúngicos no arsenal terapêutico disponível, assim como, de estratégias resolutivas frente a resistência fúngica.

### **3.8 Considerações sobre o gênero *Sida*.**

Com espécies bem representadas nas Américas, este gênero possui uma ampla distribuição neotropical de espécies. O Brasil é possuidor de aproximadamente 35 gêneros e 400 espécies, com exemplares nas regiões Nordeste e Sul e, em menor extensão, nas regiões Norte, Centro-Oeste e Sudeste (BARROSO et al., 1991; SILVA et al., 2006).

Atualmente, estudos envolvendo o gênero *Sida* foram mundialmente intensificados (ROSA, 2013). O uso popular de espécies de *Sida* vem sendo amplamente relatado na literatura para diversas enfermidades. A utilização de espécies de *Sida* no tratamento de diarreia, úlcera, abscessos, furúnculos e seu emprego como antisséptico em ferimentos são ressaltados em países africanos (ADJANOHOUN et al., 1996; NOUMI; YOMI, 2000).

A atividade moderada contra *Salmonella dysenteriae* foi constatada por Dzoyem; Pieme; Penlap (2010) nos extratos metanólicos de *S. rhombifolia*. Já Konaté et al. (2012) em sua pesquisa, relatou o relevante efeito de *S. alba* contra linhagens gram-positivas e gram-negativas.

A espécie *Sida cordifolia*, popularmente conhecida como malva-branca ou guanxuma-branca, no Brasil, é utilizada sem comprovação científica no tratamento de estomatites, bronquite asmática e congestão nasal. Sendo suas ações anti-inflamatórias e analgésicas

bastante consideráveis quando avaliados os seus extratos aquosos, validando assim, sua utilização popular (FRANZOTTI et al., 2000).

A utilização de plantas medicinais no tratamento de micoses é uma prática partilhada nas comunidades rurais do nordeste brasileiro (BARBOSA JUNIOR et al., 2015). A grande maioria das plantas desta região são fontes de moléculas bioativas com atividade antifúngica contra leveduras do gênero *Candida* spp., podendo atuar exclusivamente sobre estes patógenos (MICHELIN et al., 2005).

*Sida planicaulis* (Figura 11, p. 35), popularmente conhecida como vassoura, encontrada, também, na região do Curimataú paraibano não apresenta, até o presente momento, estudos que avaliem a sua atividade antimicrobiana, sendo assim, a escassez de literatura científica acerca da atividade antifúngica dos extratos dessa planta, ressaltam a necessidade de aprofundar as investigações da flora brasileira e, principalmente, da nossa região, sendo espécies de fácil acesso a população e, desta forma, grande disponibilidade de matéria-prima e um tratamento de baixo custo. A utilização de extratos vegetais como agentes antimicrobianos, apresenta um reduzido risco de aumento da resistência microbiana, visto que, são misturas complexas, dificultando a adaptabilidade do patógeno (DAFERERA et al., 2003).

Os resultados obtidos por Sobreira et al. (2015) após testes realizados numa prospecção fitoquímica com *Sida planicaulis* Cav. (Malvaceae) evidenciaram a presença de metabólitos secundários com atividade biológica significativa conhecida. Sendo observada a presença de esteroides, triterpenos, saponinas, alcaloides, flavonoides e taninos, sendo os três últimos, os compostos que predominaram na espécie.

**Figura 11 - *Sida planicaulis***



**Fonte:** SCHWIRKOWSKI, 2009.

Os problemas relatados e a ausência de pesquisas que avaliem e comprovem a atividade antifúngica de *Sida planicaulis* sobre leveduras potencialmente patogênicas e, que frequentemente são associadas a infecções fúngicas, justificam essa pesquisa.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Local de Trabalho

Os testes de atividade antifúngica foram realizados no Laboratório de Microbiologia do Centro de Educação e Saúde-CES (J11), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), campus Cuité/PB.

### 4.2 Produtos Naturais

Os extratos utilizados nos ensaios microbiológicos foram cedidos pela professora Dr<sup>a</sup>. Danielly Albuquerque da Costa, docente da Universidade Federal da Paraíba, sendo os extratos oriundos do projeto “Prospecção fitoquímica de *Sida planicaulis* Cav. (Malvaceae)” que foi desenvolvido como parte do Programa Institucional de Voluntários de Iniciação Científica (PIVIC) com vigência 2014-2015.

A espécie *Sida planicaulis* foi coletada em abril de 2014, no bairro Eucalipto, município de Cuité-PB, com o acompanhamento e supervisão do botânico Prof. Dr. Carlos Alberto Garcia Santos. Preparou-se uma exsicata para identificação do material coletado, sendo essa depositada no Herbário do Centro de Educação e Saúde, na UFCG, sob o código 201 (SOBREIRA et al., 2015).

Ainda segundo o autor supracitado, na obtenção dos extratos foram utilizadas as partes aéreas da espécie, sendo estas submetidas à secagem à temperatura ambiente e posteriormente triturada em moinho mecânico, obtendo 1.800 g de pó. Este, por sua vez, foi submetido à maceração em etanol 96% durante 48 h, sendo o processo repetido seis vezes. A solução obtida foi concentrada em evaporador rotativo, resultando em 162,28 g de extrato etanólico bruto (EEB). No processo de particionamento, que ocorreu logo após a obtenção do EEB, foram utilizados solventes com gradiente crescente de polaridade, como: hexano, clorofórmio e acetato de etila. As soluções extrativas resultantes após o particionamento foram concentradas em evaporador rotativo resultando em 39,10 g da fase hexânica, 21,68 g da fase clorofórmica, 2,41 g da fase acetato de etila e 67,96 g da fase hidroalcolica

Os produtos disponibilizados permaneceram armazenados em um frasco âmbar e mantidos sob refrigeração a uma temperatura inferior a 4°C, no Laboratório de Microbiologia. As soluções foram preparadas no momento de execução dos ensaios, dissolvidas, quando necessário, em DMSO (dimetilsulfóxido) e/ou Tween 80.

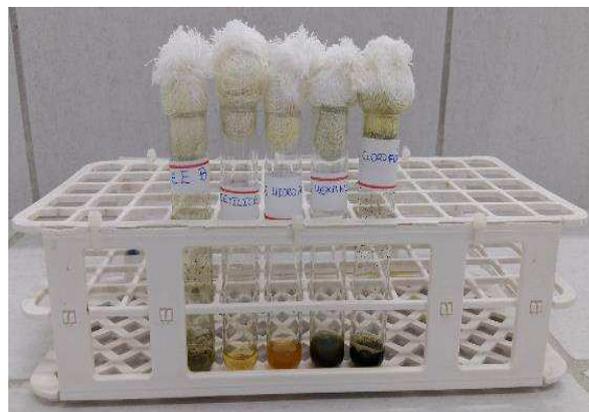
Para a realização dos testes antifúngicos amostras correspondentes a 0,01 g de EEB e das fases hexânica, clorofórmica, acetoetífica e hidroalcoólica (Figura 12, p. 38) foram devidamente pesadas em balança analítica e, posteriormente, diluídas em 1 mL de água destilada, obtendo assim, uma concentração inicial de 10.000  $\mu\text{g/mL}$  (Figura 13, p. 38). Sendo necessária a adição de Tween 80 e DMSO para a homogeneização das fases. Todas as diluições foram preparadas no dia da execução dos testes.

**Figura 12** - Extrato bruto e fases



Fonte: Pesquisador, 2016.

**Figura 13** - Soluções preparadas contendo o extrato, água destilada, Tween 80 ou DMSO.



Fonte: Pesquisador, 2016.

### 4.3 Fungos

As leveduras (Figura 14, p. 39) utilizadas nos ensaios de atividade biológica do EEB e fases de *Sida planicaulis* são provenientes de isolados clínicos e foram cedidas pelo laboratório de Microbiologia (J11) do Centro de Educação e Saúde (CES) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). E consistiram nas seguintes espécies:

- ✓ *Candida tropicalis*, *Trichosporon inkin* LM-67, *Geotrichum* 57839 e *Rhodotorula* spp.

**Figura 14** - Cepas fúngicas utilizadas nos ensaios microbiológicos.



**Fonte:** Pesquisador, 2016.

#### 4.4 Meio de Cultura

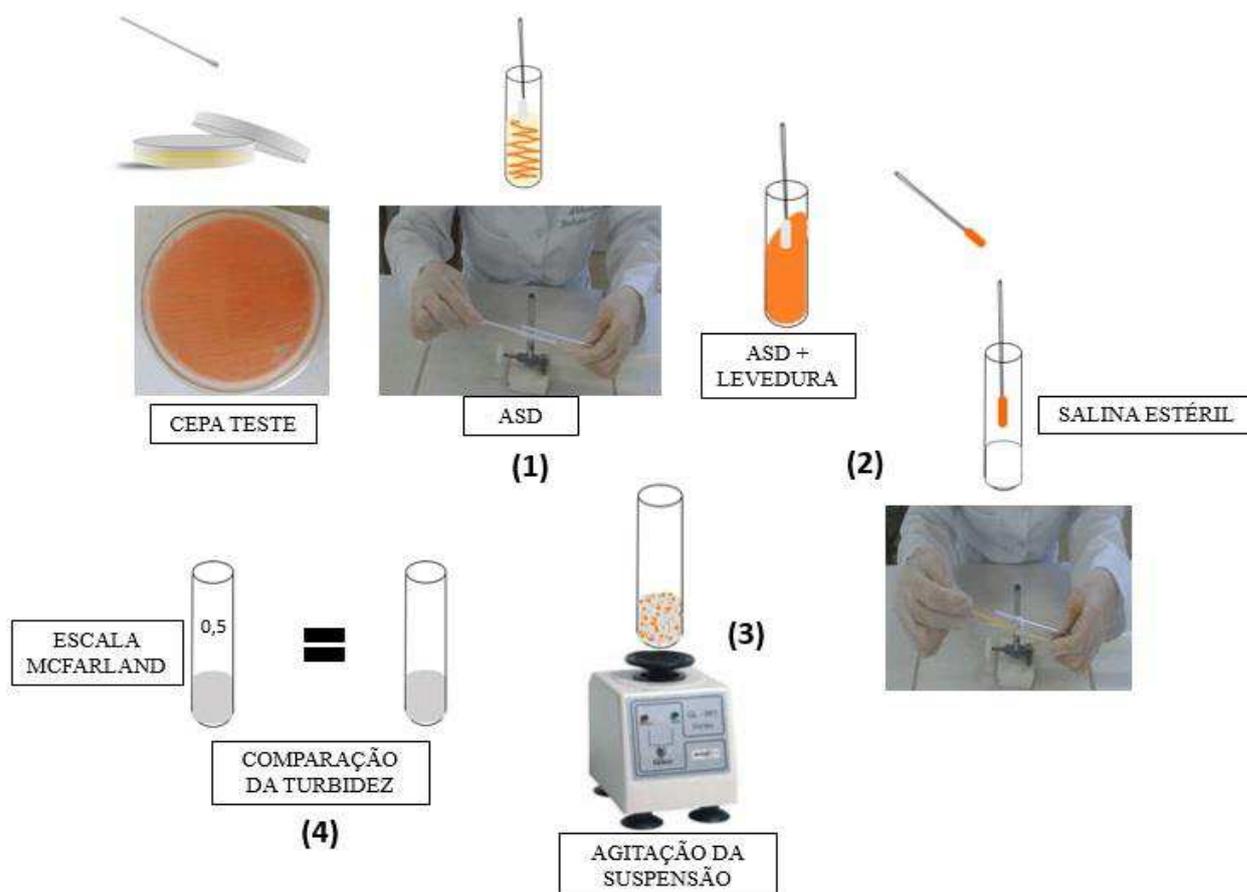
Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) foi o único meio de cultura utilizado nos ensaios microbiológicos, preparado de acordo com as instruções do fabricante. Sendo solubilizado com água destilada e esterilizado em autoclave, a 121 °C por 15 minutos.

#### 4.5 Inóculo

Na preparação do inóculo dos fungos leveduriformes, os isolados foram primeiramente cultivados em meio ASD inclinado a 35 °C por 24 horas (*overnight*) (Figura 15, p. 40).

Inicialmente foram preparadas suspensões dos microrganismos em tubos contendo salina estéril (NaCl a 0,85% p/v). Todas as suspensões foram agitadas por 2 minutos com auxílio do aparelho Vortex. Após agitação, cada suspensão teve sua turbidez comparada e ajustada àquela apresentada pela suspensão de sulfato de bário do tubo 0,5 da escala McFarland, a qual corresponde a um inóculo de aproximadamente 10<sup>6</sup> unidades formadoras de colônias/mL (UFC/mL). Todas as suspensões foram preparadas no momento da execução dos testes.

**Figura 15** – Representação esquemática da preparação do inóculo de *Rhodotorula* spp.



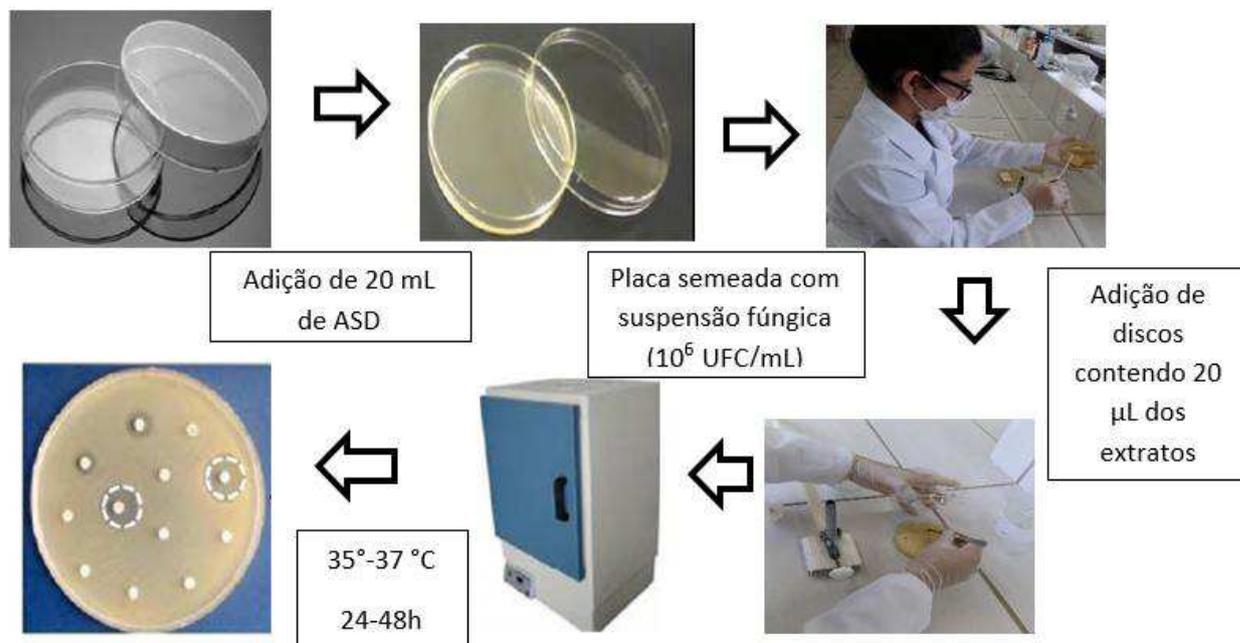
Fonte: Pesquisador, 2016.

#### 4.6 Atividade Antifúngica *in vitro*

A triagem microbiológica para avaliação do potencial antifúngico dos produtos foi realizada com base na técnica de difusão em meio sólido com discos de papel de filtro (HADACEK; GREGER, 2000). Cada placa de Petri (90 x 15 mm) estéril, recebeu 20 mL do meio ASD fundido a 50°C. Após solidificação dos meios, as placas foram semeadas com a suspensão recém preparada de cada microrganismo ( $10^6$  UFC/mL) com auxílio de um swab estéril. Em seguida, discos de papel de filtro embebidos com 20  $\mu$ L do produto teste foram depositados na superfície do meio de cultura ao centro da placa. Todo o sistema ficou incubado a 36°C por 24/48 horas (Figura 16, p. 41). Os ensaios foram realizados em triplicata e o resultado expresso pela média aritmética dos halos de inibição obtidos. Sendo a atividade antifúngica considerada positiva quando a média dos halos de inibição for superior ou igual a

10 mm de diâmetro. Utilizou-se ASD com o microrganismo como controle positivo e somente ASD como controle negativo.

**Figura 16** - Representação esquemática da metodologia de Triagem microbiológica.



**Fonte:** Adaptado de MENDES, 2011.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

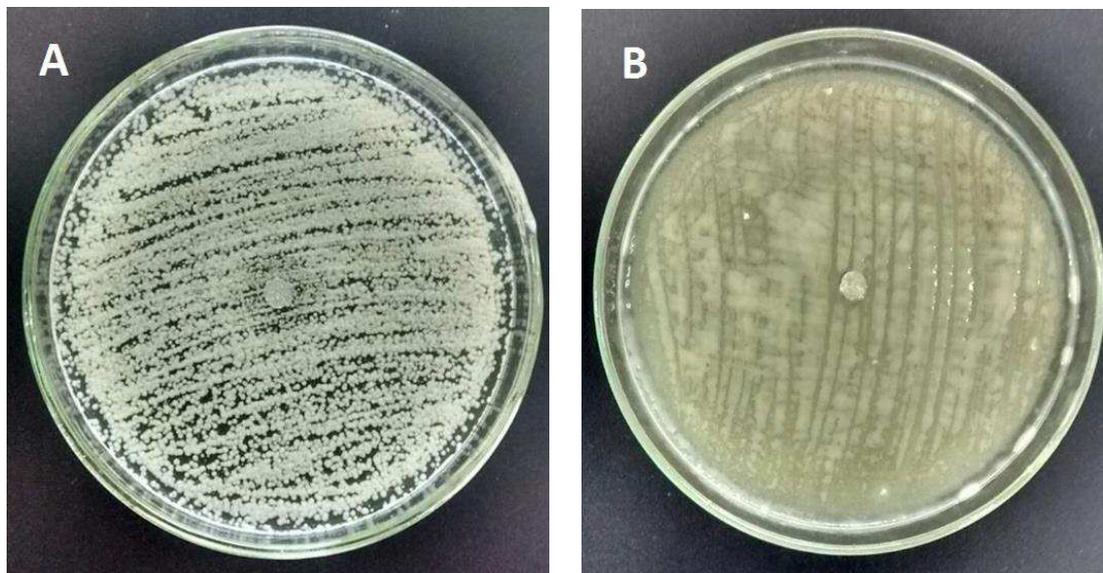
Os resultados obtidos após os testes de triagem microbiológica para avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólico bruto e fase hexânica, clorofórmica, acetoetífica e hidroalcoólica de *Sida planicaulis* sobre as cepas de *Candida tropicalis*, *Trichosporon inkin* LM-67, *Geotrichum 57839* e *Rhodotorula* spp. evidenciaram resistência fúngica nas condições experimentais utilizadas, uma vez que não foram obtidos halos de inibição (Tabela 1, p. 42), não sendo o EEB e fases capazes de inibir o crescimento de nenhuma das cepas avaliadas (Figura 17, p. 43).

Tendo em vista a ausência de atividade antifúngica observada, as etapas posteriores ao *screening* microbiológico (Concentração Inibitória Mínima e Concentração Fungicida Mínima) não foram realizadas.

**Tabela 1** - Resultados do *screening* de atividade antifúngica do EEB e fases do extrato da planta *Sida planicaulis*.

FUNGOS	HALOS DE INIBIÇÃO (mm)				
	Extrato etanólico bruto	Fase hexânica	Fase hidroalcoólica	Fase acetoetífica	Fase clorofórmica
<i>Trichosporon inkin</i> LM-67	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Candida tropicalis</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Rhodotorula</i> spp.	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Geotrichum 57839</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

**Figura 17** - Ausência de atividade antifúngica da fase hidroalcoólica de *Sida planicaulis* evidenciada pela ausência de halos de inibição e presença de crescimento das leveduras avaliadas: **(A)** *Trichosporon inkin*; **(B)** *Candida tropicalis*.



**Fonte:** Pesquisador, 2016.

A inexistência de estudos na literatura científica que avaliem a atividade antifúngica da espécie *Sida planicaulis* impossibilita a comparação de dados com outras pesquisas que avaliaram a mesma espécie vegetal. Contudo, a atividade antifúngica e, também, a ausência desta, tem sido relatada para outras espécies do gênero *Sida*. Sendo os resultados obtidos nesta pesquisa, semelhantes aos de Assis (2016) para os extratos EEB e fases hexânica (HEX), acetato de etila (AcOEt), hidroalcoólica (EtOH: H<sub>2</sub>O) e diclorometânica (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) de *Sida santaremnensis* (H. Monteiro) sobre leveduras da espécie *Candida albicans* (ATCC 76485 e 76645), através do teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM).

Anteriormente a último estudo citado, Nascimento et al. (2015) avaliou através de CIM e CFM a atividade antifúngica do extrato etanólico bruto e fases da *S. santaremnensis* sobre 12 cepas de *Rhodotorula* spp. Sendo sua ação observada no extrato etanólico bruto e nas frações acetato de etila e diclorometânica sobre três cepas de *Rhodotorula* spp., apresentando também ação fungicida.

Ferreira (2016) avaliando a atividade antifúngica do EEB de *Sida ciliaris* Linné (Malvaceae), sobre as leveduras *Candida tropicalis*, *Trichosporon inkin* e *Rhodotorula* spp. também não observou atividade antifúngica.

Rosa (2013) avaliou a atividade antifúngica do extrato aquoso de *Sida tuberculata* R. E FRIES (Malvaceae) através de *screening* microbiológico sobre onze linhagens de fungos

patogênicos, obtendo resultados promissores para *Candida krusei*, com efeito fungistático em concentrações baixas tanto nos extratos obtidos das folhas, como nos das raízes.

A atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Sida cordifolia* L. foi avaliada frente os fungos leveduriformes *Candida albicans* (ATCC 90028), *Candida guilliermondii* (LM 28), *Candida krusei* (LM 07), *Candida stellatoidea* (LM 96), *Candida tropicalis* (LM 25) e *Trichosporon inkin* por Nunes et al. (2006). Entre as cepas avaliadas, somente *C. stellatoidea* se apresentou resistente ao óleo essencial. As cepas que apresentaram maior sensibilidade foram *C. guilliermondii* e *Trichosporon inkin*.

É notável que as espécies do gênero *Sida* apresentam diferentes ações antifúngicas quando avaliadas sobre fungos leveduriformes, tornando-se de suma importância frisar que as condições ambientais, tais como: irradiação solar, disponibilidade de água, nutrientes e o clima a qual foi submetida a planta fonte do extrato testado, como também, a época na qual foi coletada, exercem influência direta sobre a produção e a concentração de princípios ativos. Os diversos mecanismos de resistência fúngica desenvolvidos, peculiares de cada microrganismo e que se apresentam como um desafio na elaboração de novos fármacos. Assim como, o número de espécies de leveduras utilizado nesse ensaio, quatro leveduras, sendo uma cepa de cada espécie, podem justificar a ausência de atividade antifúngica observada nesta pesquisa.

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nos permitem concluir que esta espécie vegetal não apresentou, nestas condições experimentais, atividade antifúngica frente as leveduras *Candida tropicalis*, *Trichosporon inkin* LM-67, *Geotrichum* 57839 e *Rhodotorula* spp., sendo assim, tal fato deve ser levado em consideração para um futuro uso da *S. planicaulis* contra as leveduras citadas.

Ainda que constatada a resistência fúngica aos extratos avaliados, este resultado contribui para o conhecimento da potencialidade terapêutica dessa espécie de *Sida*. Vale ressaltar que este é o primeiro relato da atividade antifúngica dos extratos etanólico bruto e fases de *Sida planicaulis*, o que contribui para o enriquecimento do conhecimento da atividade antimicrobiana do gênero *Sida* e das espécies da nossa região.

## REFERÊNCIAS

ADAMS, D. J. Fungal cell wall chitinases and glucanases. **Microbiology**, v. 150, n. 7, p. 2029-2035, 2004.

ADJANOHOON, J. E.; ABOUBAKAR, N.; DRAMANE, K.; EBOT, M.E.; EKPERE J.A.; ENOW-OROCK, E.G.; FOCHO, D.; GBILE, Z.O.; KAMANYI, A.; KAMSU, K.J.; KEITA, A.; MBENKUM, T.; MBI, C.N.; MBIELE, A.L.; MBOME, I.L.; MUBIRU, N.K.; NANCY, W.L.; NKONGMENECK, B.; SATABU, B.; SOFOWORA, A.; TAMZE, V.; WIRMUM, C.K. Traditional medicine and pharmacopoeia. **Contribution to ethnobotanical and floristic studies in Cameroon**. Organization of African Unity Scientific, Technical and Research Commission. Centre National de Production de Manuels Scolaires, Porto-Novo (Rep. Du Benin), p. 133, 1996.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. **Deteção e Identificação dos Fungos de Importância Médica**. Modulo VII. 2004. Disponível em: <[www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod\\_7\\_2004](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_7_2004)>. Acesso em: 10 Set. 2016.

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2005.

ALPER, I.; FRENETTE, M.; LABRIE, S. Ribosomal DNA polymorphisms in the yeast *Geotrichum candidum*. **Fungal Biology**, v.115, p.1259-1269, 2011.

ALTERTHUM, M. F. **Elementos de Microbiologia**. In: BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E. Biotecnologia Industrial. Editora Blucher, v. 1, p. 254, 2001.

ANAISSIE, E. Opportunistic mycoses in the immunocompromised host: experience at a Cancer Center and review. **Clin Infect Dis**, v. 14, n. 1, p. 43-53, 1992.

ARAÚJO, S. M.; FONTES, C. J. F.; JÚNIOR, D. P. L.; HAHN, R. C. Fungal agents in different anatomical sites in public health services in Cuiabá, state of Mato Grosso, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 54, n. 1, p. 5-10, 2012.

ASSIS, E. B. **Isolamento de Saponinas Esteroidais da fase Hexânica e Avaliação da Atividade Antifúngica de *Sida santaremnensis* (H. Monteiro)**. 2016. 47 p. Trabalho de

Conclusão de Curso (Monografia) - Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, PB, 2016. 47 p.

BARACHO, G. S. **Taxonomia do gênero *Sida* L. seção *cordifoliae* (DC.) Fryxell (Malvaceae) no Brasil.** Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal), Universidade Federal do Pernambuco, 1998.

BARBOSA JUNIOR, A. M.; DE MÉLO, D. L. F. M.; DE ALMEIDA, F. T. C.; TRINDADE, R. C. Estudo comparativo da susceptibilidade de isolados clínicos de *Cryptococcus neoformans* (Sanfelice, 1895) frente a alguns antifúngicos de uso hospitalar e extratos vegetais obtidos de plantas medicinais da região semiárida sergipana. **Revista Brasileira de plantas medicinais**, v. 17, n. 1, p. 120-132, 2015.

BARROSO, G. M. **Sistemática de Angiospermas no Brasil 2.** Imprensa Universitária, 1991.

BAUER, A.W.; KIRBY, M. D. K.; SHERIES, J. C.; TRUCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*, v. 45 p. 493-49,1966.

BEDOUT, C.; GÓMEZ, B. L. *Candida* y candidiasis invasora: un reto continuo para su diagnóstico temprano. **Infectio**, v. 14, p. 159-171, 2010.

BERGOLD, A. M.; GEORGIADIS, S. New Antifungic Drugs: A review. **Visão Acadêmica**, v. 5, p. 159-172, 2004.

BLANCO, J. L.; GARCIA, M. L. Immune response to fungal infections. **Veterinay Immunology and Immunopathology**, v. 125, n. 1, p. 47-70, 2008.

BRASIL, PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA. **Decreto nº 5.813 de 22 de junho de 2006. Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências.** D.O.U. Poder Executivo, Brasília, 23 jun, 2006.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso.** 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2004. p. 72-73.

BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda., 2012.

BURLAUD, A.; MATHIEU, D.; FALISSARD, B.; TRIVALLE, C. Mortality and bloodstream infections in geriatrics units. **Archives of gerontology and geriatrics**, v. 51, n. 3, p. 106-109, 2010.

CAVALCANTI, Y. W.; PÉREZ, A. L. A. L.; XAVIER, G. D. R.; DE ALMEIDA, L. F. D.; PADILHA, W. W. N. Atividade Antifúngica de Extratos Vegetais Brasileiros sobre Cepas de *Candida*. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 16, n. 1, p. 43-48, 2012.

COLOMBO, A. L.; MELO, A. S.; CRESPOS ROSA, R. F.; SALOMÃO, R.; BRIONES, M.; HOLLIS, R. J.; MESSER, S.A.; PFALLER, M. A. Outbreak of *Candida rugosa* candidemia: an emerging pathogen that may be refractory to amphotericin B therapy. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 46, n. 4, p. 253-257, 2003.

DAFERERA, D. J.; ZIOGAS, B. N.; POLISSIOU, M. G. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* spp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **Crop protection**, v. 22, n. 1, p. 39-44, 2003.

DZOYEM, J. P.; PIEME, C. A.; PENLAP, V. B. *In vitro* antibacterial activity and acute toxicity studies of aqueous-methanol extract of *Sida rhombifolia* Linn. (Malvaceae). **BMC complementary and alternative medicine**, v. 10, n. 1, p. 40, 2010.

EGGIMANN, P.; GARBINO, J.; PITTET, D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. **The Lancet infectious diseases**, v. 3, n. 11, p. 685-702, 2003.

ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia. **Caxias do Sul: Educs**, v. 11, 2004. 510 p.

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.

FERREIRA, L. M. B. **Prospecção Fitoquímica e Avaliação do potencial antifúngico de *Sida ciliaris* Linné (Malvaceae)**. 2016. 58 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia) - Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, PB, 2016. 58 p.

FRANZOTTI, E. M.; SANTOS, C. V.; RODRIGUES, H. M.; MOURÃO, R. H.; ANTONIOLLI, A. R. Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Sida cordifolia* L. (Malva-branca). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, n. 1, p. 273-277, 2000.

FUKUDA, E. K.; VASCONCELOS, A. F. D.; MATIAS, A. C.; BARBOSA, A. M.; DEKKER, R. F. H.; DA SILVA, M. L. C. Polissacarídeos de parede celular fúngica: purificação e caracterização. **Semina: Ciências Agrárias**, p. 117-134, 2009.

GENTE, S.; DESMASURES, N.; PANOFF, J.M.; GUÉGUEN, M. Genetic diversity among *Geotrichum candidum* strains from various substrates studied using RAM and RAPD-PCR. **Journal of Applied Microbiology**, v. 92, p. 491–501, 2002.

GHANNOUM, M. A.; RICE, L. B. Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, p. 501-517, 1999.

HADACEK, F.; GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. **Phytochemical analysis**, v. 11, n. 3, p. 137-147, 2000.

HOOG, G.S.; SMITH, M.T. Ribosomal gene phylogeny and species delimitation in *Geotrichum* and its teleomorphs. **Studies in Mycology**, v. 50, p. 489–515, 2004.

KATZUNG, B. G.; MASTERS, S. B.; TREVOR, A. J. **Farmacologia Básica e Clínica**. 12<sup>a</sup> edição. AMGH Editora Ltda. Porto Alegre, 2014.

KHAN, M. S. A.; MALIK, A.; AHMAD, I. Anti-candidal activity of essential oils alone and in combination with amphotericin B or fluconazole against multi-drug resistant isolates of *Candida albicans*. **Medical mycology**, v. 50, n. 1, p. 33-42, 2012.

KIRAZ, N. U.; YASEMIN, O. Z. A distribuição das espécies e suscetibilidade *in vitro* de isolados clínicos de *Candida* de um hospital universitário na Turquia ao longo de um período de 5 anos. **Medical Mycology**, v. 49, n. 2, p. 126-131, 2011.

KLINGSPOR, L.; TORTORONO, A. M.; PEMAN, J.; WILLINGER, B.; HAMAL, P.; SENDID, B.; VELEGRAKI, A.; KIBBLER, C.; MEIS, J. F.; SABINO, R.; RUHNKE, M.; ARIKAN-AKDAQLI, S.; SALONEN, J.; DÓCZI, I. Invasive *Candida* infections in surgical patients in intensive care units: a prospective, multicentre survey initiated by the European Confederation of Medical Mycology (ECMM) (2006–2008). **Clinical Microbiology and Infection**, v. 21, n. 1, p. 87, 2015.

KONATÉ, K.; HILOU, A.; MAVOUNGOU, J. F.; LEPENGUÉ, A. N.; SOUZA, A.; BARRO, N.; DATTÉ, J.Y.; M'BATCHI, B.; NACOUлма, O. G. Antimicrobial activity of polyphenol-rich fractions from *Sida alba* L.(Malvaceae) against co-trimoxazol-resistant bacteria strains. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 11, n. 1, p. 1, 2012.

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C. Micologia médica: fungos, actinomicetos e algas de interesse médico. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 33, n. 4, p. 332-332, 1991.

LEME, F. C. O.; NEGREIROS, M. M. B.; KOGA, F. A.; BOSCO, S. M. G.; BAGAGLI, E.; JUNIOR, V. H. Evaluation of pathogenic fungi occurrence in traumatogenic structures of freshwater fish. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 2, p. 182-185, 2011.

LOPES, S. S.; MENOR, J. C. A. S.; ARCANJO, D. D. R.; OLIVEIRA, R. C. M.; CHAVES, M. H.; COELHO, L. F. L.; SOARES, M. J. S. **Avaliação da atividade antibacteriana de *Sida santaremnensis*, Monteiro**. In: III REUNIÃO REGIONAL, FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 2008, Fortaleza, CE. Anais eletrônicos. Disponível em: <<http://www.fesbe.org.br/regional2008/?resumos/36.079>>. Acesso em: 20 ago. 2016.

MARQUES, S. A. Paracoccidiodomicose: atualização epidemiológica, clínica e terapêutica. **Anais brasileiros de dermatologia**, p. 135-146, 2003. Disponível em:

<<http://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/29967/S036505962003000200002.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 8 ago. 2016.

MARSH, P.; MARTIN, P. **Microbiologia oral**. 4. ed. São Paulo: Editora Santos, 2005.

MENCACCI, A.; CENCI, E.; BACCI, A.; MONTAGNOLI, C.; BISTINI, F.; ROMANI, L. Cytokines in candidiasis and aspergillosis. **Current pharmaceutical biotechnology**, v. 1, n. 3, p. 235-251, 2000.

MENDES, J. M. **Investigação da Atividade Antifúngica do óleo Essencial de *Eugenia caryophyllata* Thunb. sobre cepas de *Candida tropicalis***. 2011. 82 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Curso de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintético Bioativos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

MENEZES, T. O. A.; ALVES, A. C. B. A.; VIEIRA, J. M. S.; MENEZES, S. A. F.; ALVES, B. P.; MENDONÇA, L. C. V. Avaliação in vitro da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de *Candida albicans*. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 38, n. 3, p. 184-91, 2009.

MICELI, M. H.; DÍAZ, J. A.; LEE, S. A. Emerging opportunistic yeast infections. **The Lancet infectious diseases**, v. 11, n. 2, p. 142-151, 2011.

MICHELIN, D. C.; MORESCHI, P. E.; LIMA, A. C.; NASCIMENTO, G. G. F.; PAGANELLI, M. O.; CHAUD, M. V. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 1, p. 316-20, 2005.

MISHRA, A. K.; DUBEY, N. K. Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. **Applied and environmental microbiology**, v. 60, n. 4, p. 1101-1105, 1994.

MOURA, W. R. A. **Ensaio farmacológico das atividades anti-inflamatória, citotoxicidade e toxicidade aguda da *Copaifera luetzelburgii*, HARM e *Sida santaremnensis***, MONTEIRO. Tese (doutorado). Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, 2010. 69 p.

NASCIMENTO, J. P. **Avaliação do potencial antimicrobiano do extrato etanólico bruto e frações da *Sida santaremnensis* H. Monteiro (Malvaceae) sobre cepas de *Rhodotorula***

spp. 2012. 31 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia) - Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, PB, 2012. 31 p.

NASCIMENTO, J. P.; COSTA, D. A.; LIMA, E. O.; ALENCAR, M. C. B.; CARMO, E. S. Avaliação do potencial antimicrobiano do extrato etanólico bruto frações de *Sida santaremnensis* H. MONTEIRO (MALVACEAE) sobre cepas de *Rhodotorula* spp. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 10, n. 2, p. 118-125, 2015.

NOUMI, E.; YOMI, A. Medicinal plants used for intestinal diseases in Mbalmayo Region, Central Province, Cameroon. **Fitoterapia**, v. 72, n. 3, p. 246-254, 2001.

NOVAK, F. R.; ALMEIDA, J. A. G.; SANTOS, M. J. S. **Contaminação do leite humano ordenhado por fungos miceliais**. *Jornal de Pediatria*, Rio de Janeiro, v. 78, n.3. p.197-201, 2002.

NUNES, X. P.; MAIA, G. L. A.; ALMEIDA, J. R. G. S.; PEREIRA, F. O.; LIMA, E. O. Antimicrobial activity of the essential oil of *Sida cordifolia* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 642-644, 2006.

OLLIVIER, M. D.; BRETAGNE, S.; BERNÈDE, C.; ROBERT, V.; RAOUX, D.; CHACHATY, E.; FORGET, E.; LACROIX, C.; DROMER, F. Clonal population of flucytosine- Resistant *Candida tropicalis* from blood cultures, Paris, France. **Emerging infectious diseases**, v. 14, n. 4, p. 557-565, 2008.

PERES, N. T. A.; MARANHÃO, F. C. A.; ROSSI, A.; MARTINEZ-ROSSI, N. M. Dermatofitos: interação patógeno-hospedeiro e resistência a antifúngicos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, n. 5, p. 657-667, 2010.

PINHEIRO, P. **Fotos de Candidíase oral**. M.D Saúde. Disponível em: < <http://www.mdsaude.com/2008/08/fotos-candidiase.html> >. Acesso em: 10 ago. 2016.

PINTO, M. R.; BARRETO-BERGTER, E.; TABORDA, C. P. Glycoconjugates and polysaccharides of fungal cell wall and activation of immune system. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n. 2, p. 195-208, 2008.

PRADO, M. R. **Isolamento de *Microsporium canis*, *Malassezia spp.* e *Candida tropicalis* em cães: um destaque para teste de sensibilidade de *Malassezia pachydermatis in vitro*.**

2007. 143 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2007.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. **Os Reinos dos Fungos – volume 2.** Santa Cruz do Sul: Editora da UNISC, 2002. 226 p.

REX, J. H.; WALSH, T. J.; ANAISSIE, E. J. Fungal infections in iatrogenically compromised hosts. **Advances in internal medicine**, v. 43, p. 321-371, 1997.

REX, J. H.; WALSH, T. J.; SOBEL, J. D.; FILLER, S. G.; PAPPAS, P.G.; DISMUKES, W.E.; EDWARDS, J. E. Practice guidelines for the treatment of candidiasis. **Clinical infectious diseases**, v. 30, n. 4, p. 662-678, 2000.

RODRIGUES, A. G. Fitoterapia no Sistema Único de Saúde. **Anais da V Jornada Catarinense e I Jornada Internacional de Plantas Mediciniais.** Joinville, p. 68-69, 2006.

ROSA, H. S. **Caracterização e Determinação da Atividade Antifúngica *in vitro* de extratos obtidos de *Sida tuberculata* R. E. FRIES (Malvaceae).** 2013. 91 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Curso de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, 2013.

SANGLARD, D.; ISCHER, F.; KOYMANS, L.; BILLE, J. Resistance and Tolerance Mechanisms to Antifungal Drugs in Fungal Pathogens. **Institute of Microbiology**, University Hospital Lausanne, 2003.

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

SARDI, J. C. O.; SCORZONI, L.; BERNARDI, T.; FUSCO-ALMEIDA, A.M.; MENDES GIANNINI, M. J. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. **Journal of medical microbiology**, v. 62, n. 1, p. 10-24, 2013.

SCHAECHTER, M.; ENGLERBERG, N. C. **Microbiologia: mecanismos das doenças infecciosas**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 664 p.

SCHWIRKOWSKI, P. **Projeto Flora SBS: Flora de São Bento do Sul, SC**. Outubro de 2009. Disponível em: <<https://sites.google.com/site/florasbs/home>>. Acesso em: 01 ago. 2016.

SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. **Micologia Médica à luz de autores contemporâneos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

SILVA, D. A.; DA SILVA, T. M. S.; LINS, A. C. S.; COSTA, D. A.; CAVALCANTE, J. M. S.; MATIAS, W. N.; DE SOUZA, M. F. V. Constituintes químicos e atividade antioxidante de *Sida galheirensis* ULBR. (Malvaceae). **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1250-1254, 2006.

SILVA, G. S. **Estudo da Ação Antimicrobiana de Extratos de Plantas Medicinais sobre espécies de *Candida* de interesse Médico**. 2012. 23 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia). Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2012. 23 p.

SILVA, K. P. **Grave doença fúngica que ataca principalmente gatos e seres humanos está descontrolada e a vigilância sanitária já fala em epidemia no Rio de Janeiro**. Agosto de 2015. Disponível em: <http://diariodebiologia.com/2015/08/grave-doenca-fungica-de-gatos-esta-sendo-transmitida-para-seres-humanos-e-a-vigilancia-sanitaria-ja-fala-em-epidemia-no-rio-de-janeiro/>. Acesso em: 10 set. 2016.

SOBREIRA, A. L. C.; SANTOS, C. A. G.; SOUZA, M. F. V.; COSTA, D. A. Triagem fitoquímica de *Sida planicaulis* CAV. (Malvaceae). In: X Simpósio Brasileiro de Farmacognosia (SBF), 10, 2015, Juazeiro. **Anais eletrônicos de Juazeiro**. Juazeiro: UNIVASF, 2015. Disponível em: <[http://www.plamevasf.univasf.edu.br/arquivos\\_anais/qum605.pdf](http://www.plamevasf.univasf.edu.br/arquivos_anais/qum605.pdf)>. Acesso em: 10 set. 2016.

SOMENZI, C. C.; RIBEIRO, T. S.; MENEZES, S. Características Particulares da Micologia Clínica e o Diagnóstico Laboratorial de Micoses Superficiais. 77. ed. **NewsLab**. Universidade Santa Cecília e Fundação Lusíada/UNILUS, p. 106-118, Santos, São Paulo, 2006.

STEVENS, P. F. **Angiosperm Phylogeny Website**. Versão 4, 2003. Disponível em: <<http://www.mobot.org/MOBOT/research/Apweb/>>. Acesso em: 20 set. 2016.

TAN, T. Y.; TAN, A. L.; TEE, N. W. S.; SY NG, L. A Retrospective analysis of antifungal susceptibilities of *Candida* bloodstream isolates from Singapore hospitals. **Ann Acad Med Singapore**, v. 37, n. 10, p. 835-40, 2008.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed editora, 2002.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

TUON, F. F.; COSTA, S. F. *Rhodotorula* infection. A systematic review of 128 cases from literature. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 25, n. 3, p. 135-140, 2008.

WINGETER, M. A.; GUILHERMETTI, E.; SHINOBU, C. S.; TAKAKI, I.; SVIDZINSKI, T. I. E. Identificação microbiológica e sensibilidade *in vitro* de *Candida* isoladas da cavidade oral de indivíduos HIV positivos. **Revista da Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, v. 40, n. 3, p. 272-6, 2007.

YAPAR, N. Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. **Ther Clin Risk Manag**, v. 10, p. 95-105, 2014.

ZACCHINO, S. **Estratégia para a descoberta de novos agentes antifúngicos**. In: YUNES, R.A. E CALIXTO, J. B. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó: Argos, p. 435-479, 2001.