

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE ODONTOLOGIA**

MARIA DE FÁTIMA VIEIRA ALVES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA FASE ACETATO DE ETILA DA
Rhaphiodon echinus CONTRA CEPAS DO GÊNERO *Candida spp***

PATOS - PB

2018

MARIA DE FÁTIMA VIEIRA ALVES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA FASE ACETATO DE ETILA DA
Rhaphiodon echinus CONTRA CEPAS DO GÊNERO *Candida spp***

Trabalho de Conclusão do Curso (TCC) apresentado à Coordenação do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho.

PATOS - PB

2018

MARIA DE FÁTIMA VIEIRA ALVES

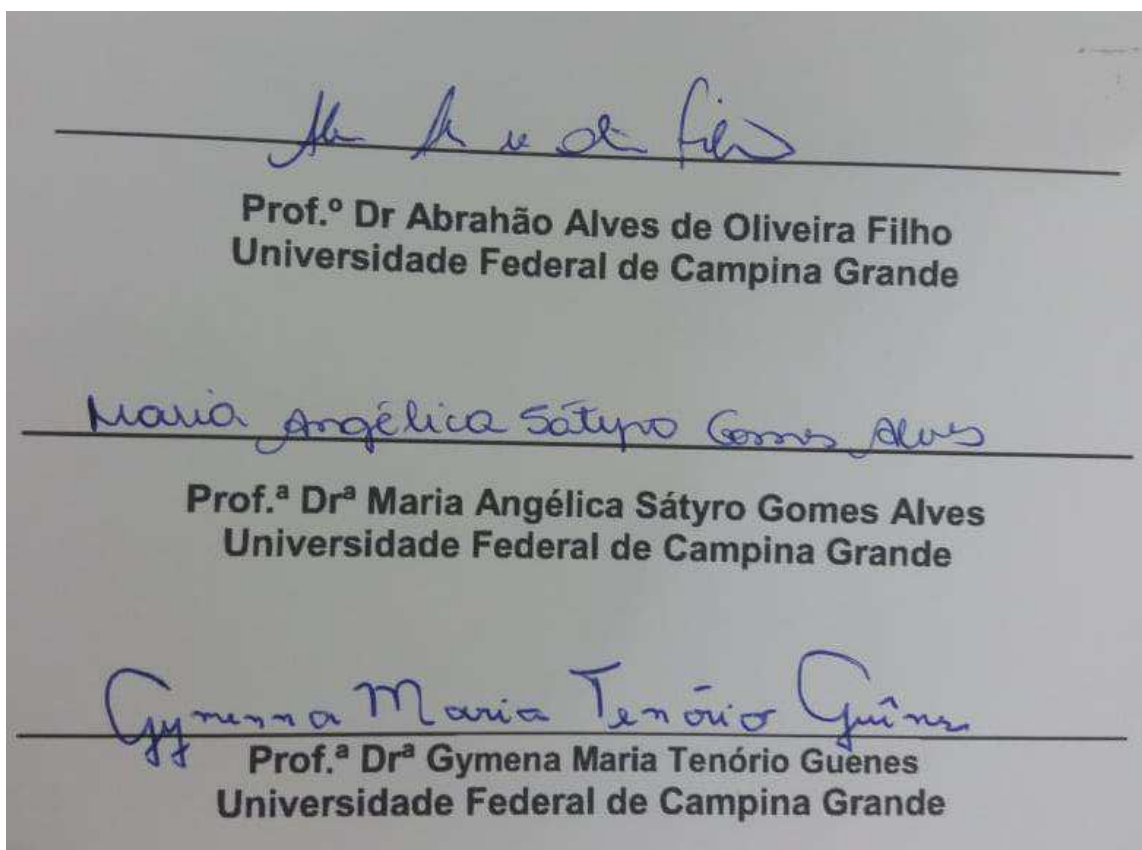
**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA FASE ACETATO DE ETILA DA
Rhaphiodon echinus CONTRA CEPAS DO GÊNERO *Candida spp***

Trabalho de Conclusão do Curso (TCC) apresentado à Coordenação do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho.

Aprovado em: 29/11/2018

BANCA EXAMINADORA



- A474a Alves, Maria de Fátima Vieira.
Avaliação da atividade antifúngica da fase acetato de etila da *Rhaphiodon echinus* contra cepas do gênero *Candida spp* / Maria de Fátima Vieira Alves. – Patos, 2018.
38 f.: il. color.
- Monografia (Graduação em Odontologia) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2018.
"Orientação: Prof.^a Dr.^a Maria Angélica Sátyro Gomes Alves".
Referências.
1. Produtos Naturais. 2. Fitoterapia. 3. Candida. 4. Odontologia. I. Alves, Maria Angélica Sátyro Gomes. II. Título.

CDU 616.314(043)

*A Deus, por ser o meu refúgio e força e nunca me desamparar.
Aos meus pais, pelo incentivo constante em todas as etapas da minha vida .*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a *Deus*, por me dar sabedoria, discernimento e força por me conduzir pelos melhores caminhos, pela proteção, por ter me ensinado a superar as adversidades, por nunca me desamparar, pela oportunidades, infinitas bênçãos que derramastes na minha vida, a Ti toda honra por todas as minhas conquistas.

Aos meus pais, por me ensinarem os caminhos do amor, dignidade, honestidade e dedicação, por me incentivarem e apoiarem todas as minhas decisões e acima de tudo por sonharem comigo, vocês são meu maior exemplo, a vocês dedico todas as minhas conquistas.

Aos meus irmãos pelo companheirismo e incentivo nessa jornada acadêmica, obrigada por dividir os fardos comigo.

À minha dupla, *Ingridy Cristiny*, por todo companheirismo, por tonar os dias pesados mais leves por suportar às vezes minhas teimosias, por me tranquilizar nos momentos de angustia.

Ao meu orientador, Prof. *Abrahão Alves de Oliveira Filho*, pela oportunidade, pela confiança depositada, paciência e atenção a mim destinada, por ter apoiado e incentivado a vontade pela pesquisa.

A minha querida professora Maria *Angélica Satyro Gomes Alves* por quem tenho um enorme carinho e admiração. Admiro sua personalidade e sua capacidade de transmitir o conhecimento que a torna esta profissional tão brilhante e esse ser humano incrível.

As amigas que a faculdade proporcionou Talita Correia, Nádia Tainá, Yanka Menezes, Alana Carolina, Morgana Dantas, Cristany, agradeço pelos bons momentos partilhados, apoio, presença nos momentos difíceis e alegres, levarei vocês em meu coração.

Prof^a. Dr^a. Gabriela Lemos de Azevedo Maia por ter gentilmente cedido o extrato.

Prof^a. Dr^a Edeltrudes de Oliveira Lima e seus orientandos Hermes e Daniela por ter cedido às cepas e o Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas e pela orientação durante a realização dessa pesquisa.

A todos os meus queridos mestres por toda dedicação, paciência, partilha de conhecimento e ensinamentos para a vida.

A todos os meus queridos colegas pelo companheirismo, desabafos, angústias e pela agradável convivência durante todos esses anos.

A todos os funcionários da UFCG por ter me aturado todos esses anos.

Enfim, a todos que de algum modo contribuíram para minha formação, meus sinceros agradecimentos.

“Graças ao grande amor do Senhor é que não somos consumidos,
pois as suas misericórdias são inesgotáveis.
Renovam-se cada manhã; grande é a sua fidelidade!
Digo a mim mesmo: A minha porção é o Senhor;
portanto, nele porei a minha esperança.”

Lamentações 3:22-24

RESUMO

A candidíase é uma doença comumente diagnosticada na cavidade bucal de pacientes usuários de prótese total esta é uma infecção fúngica e causada por leveduras do gênero *Candida*. Para o tratamento desta infecção são utilizados diversos agentes antifúngicos, porém as limitações terapêuticas, baixa eficácia, e a elevada toxicidade são fatores importantes para a busca por uma alternativa viável para o tratamento dessa infecção. Devido a importância clínica das candidoses orais é fundamental a investigação de novas terapêuticas. Diante dessa necessidade a pesquisa com plantas medicinais como *Rhaphiodon echinus* tem sido promissora. Neste contexto, este trabalho teve por objetivo investigar a possível atividade antifúngica da fase acetato de etila da *Rhaphiodon echinus* sobre cepas de *Candida Albicans*, *Candida Krusei* e *Candida tropicalis* através da determinação da concentração inibitória Mínima (CIM) sobre a técnica de microdiluição em caldo. Para isso foram utilizadas 100 µl do meio líquido caldo Sabouraud dextrose duplamente concentrado, em seguida 100µl da fase de *Rhaphiodon echinus* na concentração inicial de 2048 µg/mL dispensado na primeira fileira da placa e por diluição seriada em razão de dois foram obtidas as concentrações de 1024 até 4 µg/mL por último 10 µl do inóculo das cepas fúngicas. Como resultado obteve-se a CIM variando de 256 µg/mL a 1024 µg/mL, visto que obteve para todas as cepas uma CIM 50% de 512 µg/mL, portanto este produto apresenta alta efetividade para inibir o crescimento fúngico, porém são necessárias mais pesquisas para se saber qual o seu mecanismo de ação.

Palavras-chave: Produtos naturais; Fitoterapia; Candida, Odontologia.

ABSTRACT

Candidiasis is a disease commonly diagnosed in the oral cavity of patients using total prosthesis. This is a fungal infection caused by yeasts of the genus *Candida*. Several antifungal agents are used for the treatment of this infection, however, therapeutic limitations, low efficacy and high toxicity are important factors for the search for a viable alternative for the treatment of this infection. Due to the clinical importance of oral candidoses, it is essential to investigate new therapies. Faced with this need, research with medicinal plants such as *Rhaphiodon echinus* has been promising. In this context, the objective of this work was to investigate the possible antifungal activity of the ethyl acetate phase of *Rhaphiodon echinus* on strains of *Candida Albicans*, *Candida Krusei* and *Candida tropicallis* by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) on broth microdilution technique. For this purpose, 100 µl of the doubly concentrated liquid Sabouraud dextrose broth medium was used, then 100 µl of the *Rhaphiodon echinus* phase at the initial concentration of 2048 µg / ml dispensed in the first row of the plate and by serial dilution in two ratios the concentrations of 1024 to 4 µg / mL and last 10 µl of the inoculum of the fungal strains. As a result, MICs ranged from 256 µg / mL to 1024 µg / mL, as it obtained a 50% MIC of 512 µg / mL for all strains, so this product has high effectiveness to inhibit fungal growth, however research is needed to know what its mechanism of action is.

Keywords: Natural products; Phytotherapy; Candida, Dentistry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Candida spp.....	17
Figura 2- Aspecto clínico: candidíase pseudomembranosa	19
Figura 3- Aspecto clínico: candidíase eritematosa	19
Figura 4- Aspecto clínico: glossite romboidal mediana	20
Figura 5- Aspecto clínico: queilíte angular	20
Figura 6- Aspecto clínico: estomatite protética.....	20
Figura 7- Raphiodon echinus	25

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS.....	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
3.1 ETIOLOGIA, FISIOPATOLOGIA E FATORES DE RISCO DA CANDIDÍASE..	16
3.2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DA CANDIDÍASE BUCAL.....	17
3.3 PRODUTOS NATURAIS E PESQUISAS SOBRE ATIVIDADE ANTIFUNGÍCA	22
REFERÊNCIAS.....	26
6. ARTIGO.....	29
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	37
ANEXO.....	39

1. INTRODUÇÃO

Cerca de 700 espécies de micro-organismos coabitam de forma harmônica a cavidade bucal dos seres humanos. Dentro desta complexa comunidade microbiana encontra-se o gênero *Candida spp.* Quando ocorre um desequilíbrio nessa relação, a *Candida*, que antes era comensal, passa a ser um patógeno oportunista dando origem ao que chamamos de candidíase bucal, doença comumente encontrada na rotina odontológica principalmente de indivíduos portadores de prótese total (MCLNTYRE, 2001; PASTER et al., 2006).

A candidíase é umas das principais infecções da cavidade bucal e uma das causas do aumento de mortalidade, morbidade e tempo nas internações hospitalares em Unidade de Terapia Intensiva, uma vez que esses pacientes normalmente são submetidos a tratamentos imunossupressores. Além disso, a higiene bucal inadequada desses pacientes faz com que haja o aumento da proliferação desses microrganismos oportunistas, afetando a sua recuperação (PIRES et al., 2011).

Os principais fármacos utilizados no tratamento da candidíase são antifúngicos de uso local e sistêmico dos grupos azóis como o fluconazol e os polienos como a nistatina porém, o aumento da resistência devido ao uso indiscriminado, a baixa eficácia, o alto custo e a elevada toxicidade são fatores importantes para a busca por uma nova alternativa para o tratamento dessa infecção. Diante disso, o uso dos produtos naturais tem sido uma opção como substituto das terapias convencionais (GUIDO; OLIVA; ANDRICOPULO, 2008; NIIMI; FIRTH; CANNON, 2010).

Atualmente a Fitoterapia é bastante aplicada com finalidades de prevenção e tratamento de diversas doenças. Diante deste contexto o conhecimento popular tem orientado os estudiosos na busca por novas substâncias com atividade farmacológicas, a exemplo da *Rhaphiodon echinus*, pertencente a família lamiacea, única planta que representa o gênero *Rhaphiodon*, típica da caatinga , ela é conhecida popularmente como flor de urubu ou betônica sendo amplamente usada no tratamento de infecções do trato genitounitário e cavidade bucal (MENEZES et al., 1998; MACHADO et al., 2003; ANDRADE; CARDOSO; BASTOS, 2007; TORRES et al., 2009).

Sendo assim, é de fundamental importância a investigação sobre a atividade terapêutica dos produtos naturais a fim de que possam ser utilizadas de forma adequada, com as corretas indicações, posologia e via de administração para serem administradas com baixa toxicidade, efeitos colaterais mínimos, alta biodisponibilidade e eficácia. Com base nessas informações este trabalho teve como objetivo investigar a atividade antifúngica da fase acetato de etila da *Rhaphiodon echinus* sobre cepas de *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei*.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade antifúngica *in vitro* fase acetato de etila da *Rhaphiodon echinus* contra cepa de *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar a concentração inibitória mínima da fase acetato de etila da *Rhaphiodon echinus* sobre as cepas de *Candida albicans*;
- Avaliar a concentração inibitória mínima da fase acetato de etila da *Rhaphiodon echinus* sobre as cepas de *Candida tropicalis*;
- Verificar a concentração inibitória mínima da fase acetato de etila da *Rhaphiodon echinus* sobre as cepas de *Candida krusei*.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 ETIOLOGIA, FISIOPATOLOGIA E FATORES DE RISCO DA CANDIDÍASE

A candidíase (Figura- 1) é um grupo de doenças que compartilham o gênero *Candida* como agente etiológico. Embora a *Candida albicans* seja a mais prevalente em infecções orais causadas por fungos, outras espécies foram isoladas dentre elas, *Candida krusei*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida kefyr* e *Candida glabrata* (MCLNTYRE, 2001).

A cândida é um fungo oportunista encontrado na microbiota residente do ser humano. Geralmente, a candidíase ocorre quando há um desequilíbrio entre três fatores: a proteção do hospedeiro, virulência do fungo e alterações locais (CORONADO-CASTELLOTE L, JIMÉNEZ-SORIANO, 2013).

Quanto aos fatores predisponentes ao hospedeiro podemos citar: depressão no sistema imune, alterações metabólicas, antibioticoterapia prolongada, quimioterapia, comprometimento da barreira cutânea ou mucosa, etc.(PFALLER, 2007).

Dentre os fatores locais mais comuns, encontram-se: uso de próteses mal adaptadas, mal higienizadas ou de uso contínuo, uso aparelhos ortodônticos, xerostomia, tabagismo, respiração bucal e fatores mecânicos (JORGE, 1997; STRAMANDINOLI, et al., 2010; TARCIN, 2011).

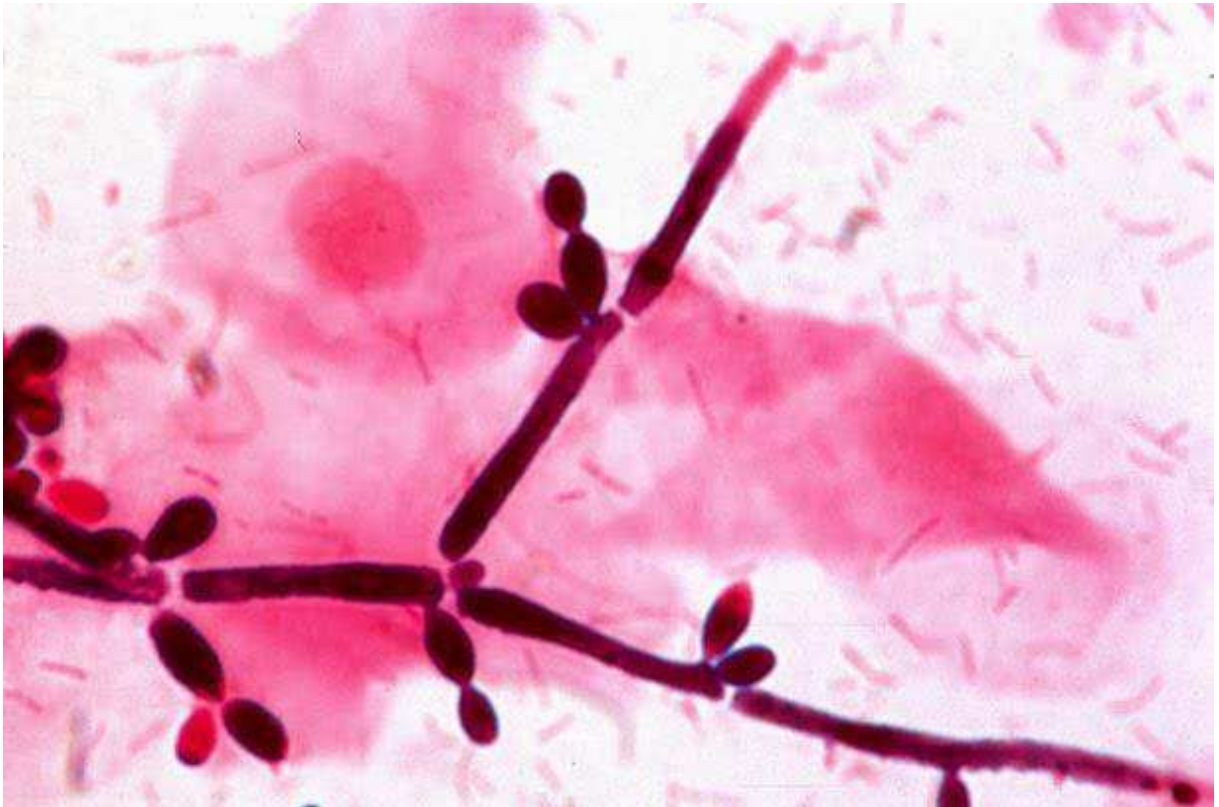
Quanto aos fatores envolvidos na virulência do fungo destacam-se à presença de glicoproteínas que são responsáveis por sua adesão aos receptores celulares presentes nas membranas do hospedeiro, a presença dos tubos germinativos e da fosfolipase C que facilitam a proliferação do fungo, invasão e destruição tecidul. Polissacraideos produzidos pelos fungos podem suprimir a resposta imune do hospedeiro, além disso, a capacidade de formar biofilmes permitem a estes a capacidade de se defenderem contra o sistema imune do hospedeiro e a resistirem as terapias antifúngicas (RAMAGE, et al., 2005; CORONADO-CASTELLOTE; JIMÉNEZ-SORIANO, 2013).

A transição entre as formas de levedura e hifa, a capacidade de se adaptar às alterações ambientais como variações do pH ambiental, baixa disponibilidade de

nutriente tornam estas espécies capazes de resistirem a condições ambientais inóspitas (MAYER; WILSON; HUBE, 2013; DANTAS et al., 2016).

Quando a candidíase se dissemina pela via hematogênica passa a ser chamada de candidemia o que deixa de ser uma infecção local e passa a ser sistêmica tornando-a de difícil resolutividade, podendo progredir para uma endocardite e comprometimento do sistema nervoso central, surgimento de lesões cutâneas apresentando-se como uma infecção grave ou mesmo fatal, dependendo do grau de comprometimento do indivíduo (COLOMBO; GUIMARÃES, 2003; SIQUEIRA et al., 2014).

Figura 1- Candida spp.



Fonte: Disponível em: <http://www.asm.org/>

3.2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DA CANDIDÍASE BUCAL

Classificam-se as manifestações orais da candidíase em 7 tipos diferentes: Pseudomembranosa, eritematosa, candidíase atrófica, queilite angular, estomatite

protética, candidíase hiperplásica crônica e a candidíase Mucocutânea (NEVILLE et al., 2016).

A candidíase pseudomembranosa (Figura- 2) é comumente encontrada na prática clínica, apresenta-se como uma placa esbranquiçada que ao ser removido por raspagem apresenta um leito eritematoso, é mais frequentemente encontrada em pessoas sistema do sistema imunológico comprometido ou que foram submetidas antibioticoterapia prolongada de amplo espectro. Pode ser assintomática ou apresentar leve sensação de queimação e sabor desagradável (MUZYCA, 2005; TARCIN, 2011; NEVILLE et al., 2016).

A candidíase eritematosa (Figura- 3) é a mais frequente das candidíases podendo passar despercebida por não apresentar um aspecto clássico como a anterior. Apresenta-se como uma área avermelhada extensa ou pontual. Possui várias manifestações clínicas como: candidíase atrófica aguda, glossite romboidal mediana, candidíase multifocal crônica, queilite angular e estomatite protética (WEBB et al. ,1998).

A candidíase atrófica aguda pode ser assintomática ou paciente pode apresentar uma sensação de queimação devido à perda das papilas. Já na Glossite romboidal (Figura- 4) mediana apresenta uma área eritematosa na linha média do dorso da língua devida a atrofia das papilas filiformes, normalmente assintomáticas. A multifocal crônica é conhecida como “lesão beijadora” porque devido o contato de uma área, a outra é contaminada (NEVILLE et al., 2016).

A queilite angular (Figura- 5) ocorre principalmente em paciente idosos devido à perda da dimensão vertical que propicia uma umidade frequente na área de comissura labial devido à presença da saliva (ALMEIDA; MELO; LIMA, 2007).

A estomatite protética (Figura- 6) é uma infecção comum em áreas subjacentes à prótese na maioria dos casos é assintomática. Entre os fatores locais associados estão à má adaptação, a má higienização e o uso contínuo da prótese (GENDREAU; LOEWY, 2011).

Candidíase hiperplásica crônica ou leucoplasia por *Cândida*, é definida por alguns autores como uma candidíase sobreposta a uma leucoplasia preexistente, já

outros que a cândida pode induzir a formação de uma área hiperkeratosa (SAMARANAYAKE; KEUNG LEUNG; JIN, 2009).

A Candidíase Mucocutânea está relacionada a uma desordem severa do sistema imunológico que afeta pele e mucosa, podendo estar associada a um distúrbio endócrino, anemia ferropriva e alteração imunológica (REGEZI; SCIUBBA, 2000).

Figura 2- Aspecto clínico: candidíase pseudomembranosa



Fonte: MUSBED, 2011

Figura 3- Aspecto clínico: candidíase eritematosa



Fonte: Faculdade de Odontologia da UFRGS.

Figura 4- Aspecto clínico: glossite romboidal mediana



Fonte: Faculdade de Odontologia da UFRGS.

Figura 5- Aspecto clínico: queilite angular



Fonte: Faculdade de Odontologia da UFRGS.

Figura 6- Aspecto clínico: estomatite protética



Fonte: MUSBED, 2011

3.3 TRATAMENTOS DA CANDIDÍASE

Para o tratamento adequado da candidíase é necessária uma análise minuciosa da história médica do paciente, pois além de auxiliar no diagnóstico, permite também a identificação dos fatores predisponentes, já que o diagnóstico correto e a remoção desses fatores aumentam a chance de cura e reduz as recidivas. A escolha da droga é determinada por diversos fatores que incluem história médica, gravidade, sintomas, etc. As principais classes de antifúngicos utilizados para o tratamento das infecções fúngicas são: polienos e os azóis (TARCIN, 2011).

Os dois polienos usados nos tratamentos da candidíase são a nistatina e a anfotericina-B, sendo a nistatina o mais utilizado. A nistatina pode atuar como fungicida e fungistático. Dependendo das concentrações administradas, ela age se ligando ao ergosterol presente na membrana plasmática aumentando a permeabilidade da membrana, o esvaziamento dos componentes celulares levando à morte celular. Ela não é absorvida oralmente e é extremamente tóxica por via parenteral. Suas fórmulas de apresentação são: cremes, comprimidos, pastilhas, géis, suspensões, bochechos. O tratamento dura em torno de 7 a 14 dias, com a permanência do tratamento de 2 a 3 dias após a remissão dos sintomas pra reduzir as chances de recidiva. Em pacientes portadores de prótese dentária deve ser feita uma orientação quanto à higienização da prótese e o uso continuado e avaliar a necessidade de ajustes na prótese (SAMARANAYAKE; KEUNG LEUNG; JIN, 2009; HUBER; TERÉZHALMY, 2011; TARCIN, 2011).

A anfotericina-B apresenta o mecanismo de ação semelhante à nistatina. As formas de apresentação são a pomada, suspensões, cremes, pastilhas, e a de uso parenteral. Esta última é reservada, para casos sistêmicos graves já que um dos efeitos adversos da droga é a nefrotoxicidade ocorrendo em cerca de 50% a 90% dos casos (EGGIMANN; GARBINO; PITTET, 2003; SAMARANAYAKE; KEUNG LEUNG; JIN, 2009; HUBER; TERÉZHALMY, 2011).

Os azóis são classificados em imidazóis e triazóis. Exemplo de imidazóis são o clotrimazol, o miconazol e o cetoconazol e de triazóis são o fluconazol, o itraconazol, o voriconazol e o posaconazol e o isavuconazol (PAPPAS et al., 2015).

O clotrimazol apresenta atividade antifúngica de amplo espectro. Na forma de creme é indicado para o tratamento da queilite angular e pode ser aplicado nas comissuras labiais três vezes por dia. O miconazol também apresenta um amplo espectro e seu mecanismo de ação inclui alterar a adesão do fungo. Além disso, inibe a formação de tubos germinais e de micélios. O cetoconazol tem como principal indicação a candidíase secundária. Este é um fármaco que é bem absorvido devido a sua afinidade ao PH ácido. Os principais efeitos adversos incluem intolerância gastrointestinal, náuseas e vômitos. (SAMARANAYAKE; KEUNG LEUNG; JIN, 2009).

Os triazóis (fluconazol, o itraconazol, o voriconazol e o posaconazol e o isavuconazol) apresentam atividade semelhante contra a maioria das espécies de *Candida spp.* O fluconazol bloqueia a enzima esterol 14-demetilase e promove danos à membrana plasmática e ,conseqüentemente, a morte celular. Ele apresenta uma ótima absorção pelo trato gastrointestinal. Como não é metabolizado pelo corpo humano é excretado pelo rim sem alterações e tem alta absorção sistêmica. Devido a isso é amplamente utilizado na terapia de pacientes com a síndrome da imunodeficiência (HUBER; TERÉZHALMY, 2011).

O itraconazol é indicado para pacientes em que o tratamento com fluconazol não obteve resultados satisfatório. Este fármaco tem um amplo espectro de atividade, incluindo *Candida spp.* (SAMARANAYAKE; KEUNG LEUNG; JIN, 2009).

Voriconazol é eficaz tanto para a candidíase mucosa como para a invasiva. Ele Tem sido usado para o tratamento das afecções orais em que a *C. krusei* foi resistente ao fluconazol. A biodisponibilidade oral de voriconazol não é alterada pelo pH gástrico, porém há uma diminuição na absorção ao ser administrado concomitantemente a alimentos. O posaconazol é um antifúngico de segunda geração com amplo espectro. Apresenta alta afinidade pelas proteínas plasmáticas, o que sugere uma ampla distribuição para os tecidos. É eliminado nas fezes e urina e cerca de 66% é eliminado sem alterações metabólicas (VAN DER PLAS, 2016).

3.4 PRODUTOS NATURAIS E PESQUISAS SOBRE ATIVIDADE ANTIFUNGÍCA

Fármacos de uso tópico como a nistatina e o fluconazol têm sido utilizados no tratamento da candidíase, porém a dissolução pela saliva, a movimentação da

língua e da musculatura bucal normalmente reduzem a dose e as concentrações dessas substâncias, fazendo com que o tratamento seja prolongado e haja aumento nas dosagens e nas recidivas, dificultando assim a adesão do paciente ao tratamento. A maior dificuldade associada à utilização dos medicamentos antifúngicos é a resistência, principalmente devido ao uso indiscriminado. Devido a isso tem aumentado a procura por novas substâncias que sejam mais eficientes, menos tóxicas, com menos efeitos colaterais, baixo custo maior disponibilidade (OLIVEIRA, 2014).

Tendo em vista a necessidade da busca por novas terapêuticas a pesquisa com plantas medicinais tem sido promissora. As substâncias liberadas pelas plantas medicinais durante o seu metabolismo secundário são conhecidas por atuarem diretamente ou indiretamente sobre as diversas células do organismo humano. O aumento pelo interesse nas plantas medicinais tem crescido e uso popular medicinal tem guiado as pesquisa ao encontro de novas substâncias com propriedades terapêuticas. Como qualquer outro medicamento, necessita de estudos que esclareçam informações a respeito da eficácia, dos seus efeitos adversos, de sua biodisponibilidade, etc. (CALIXTO, 2005; ARAÚJO et al., 2007).

Devido a grande diversidade da flora brasileira tem crescido a busca por produtos naturais pela indústria. No Brasil, foram investigados extratos e óleos essenciais de cerca de 80 espécies medicinais de uso popular frente a atividade antibacteriana, e antifúngica indicando que a pesquisa com plantas medicinais tem sido promissora por apresentar diversas propriedades que podem ser usadas com finalidades terapêuticas (DUARTE, 2005).

As plantas da família Lamiaceae pertencem à ordem *Tubiflorae Lamiales*. Atualmente no Brasil, existem 32 gêneros e 496 espécies. Estas espécies já apresentam diversas propriedades biológicas relatadas na literatura. As substâncias produzidas pelas plantas durante o seu metabolismo secundário podem apresentar diferentes atividades biológicas, muitas dessas plantas são utilizadas para tratar doenças infecciosas de grande importância médica, confirmando o fato de que produtos naturais são candidatos potenciais efetivos para o desenvolvimento de estratégias para tratar infecções (LORENZI; MATOS, 2002; MACHADO, 2003; HARLEY, 2012; SANTIN, 2013).

Muitas espécies da família Lamiaceae, apresentam um grande número de metabólitos secundários, sendo amplamente usado pela população devido suas propriedades terapêuticas. Um representante da família Lamiaceae na Caatinga é o gênero *Rhaphiodon*, constituído de uma única espécie, a *Rhaphiodon echinus* (Figura- 7) conhecida popularmente como flor de urubu é comumente encontrada na vegetação da caatinga nos estados do Nordeste brasileiro. É uma erva com flores roxas e folhas longas de cabeça esférica. Na medicina popular a infusão das folhas de *Rhaphiodon echinus* são utilizadas para diversos fins terapêuticos como no tratamento da tosse, inflamação da cavidade bucal, infecções no trato geniturinário. Estudos mostraram que o *R. echinus* apresenta atividades antimicrobiana, antiinflamatória e analgésica e que suas propriedades podem ser atribuídas a sua atividade antioxidante. (MENEZES et al., 1998; TORRES et al., 2009).

Em um estudo realizado com a associação do óleo essencial de *R. echinus* com alguns antifúngicos com a nistatina e o fluconazol nas cepas de *Candida albicans*, *C. krusei* e *C. Tropicalis*, houve uma associação antagônica significativa entre o óleo essencial e a nistatina em comparação com a nistatina isolada. Nenhum efeito sinérgico foi observado entre o óleo essencial e a nistatina contra *C. Krusei* e *C. Tropicalis*. Porém, na presença do fluconazol mostrou ação sinérgica contra a *C. krusei* e *C. tropicalis* em comparação com o fluconazol sozinho (MENEZES et al., 1998).

Considerando a resistência das leveduras pertencentes ao gênero *Candida* frente às terapias convencionais, é necessária a busca de novos compostos com atividade antifúngica. Desta forma os produtos de origem vegetal denotam de grande importância, devido à facilidade ao acesso e o baixo custo, porém é necessário avaliar a real possibilidade de aplicação destes produtos na prevenção e tratamento das doenças infecciosas sendo necessária a realização de estudos de cunho toxicológico e clínico para que estes fármacos possam ser usado com segurança (LIMA, 2006).

Figura 7- Raphiodon echinus



Fonte: ALEX_POPOVKIN, 2007

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, V.G.V.; MELO, G.M.A.; LIMA, G. A. Queilite angular: sinais, sintomas e tratamento. **INT. J. DENTISTRY**, v. 6, n. 2, p. 55-5, 2007.
- ANDRADE, S.F.; CARDOSO, L.G.; BASTOS, J.K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnoic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. **J Ethnopharmacol**, v.109, n. 3, p. 464-471, 2007.
- ARAÚJO, E.C. et al. Use of medicinal plants by patients with cancer of public hospitals in João Pessoa (PB). **Rev. Espaço Saúde**, v. 8, n. 2, p. 44-52, 2007.
- CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view. **J of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 131-134, 2005.
- CLEELAND, R.; SQUIRES, E. Evaluation of new antimicrobials *in vitro* and in experimental animal infections. In: Lorian, V. M. D. **Antibiotics in Laboratory Medicine**. New York: Willians & Wilkins, p. 739-788, 1991.
- COLOMBO, A.L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp, **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**, v. 36, n. 5, p. 599-607, 2003.
- CORONADO-CASTELLOTE, L., JIMÉNEZ-SORIANO Y. Clinical and microbiological diagnosis of oral candidiasis. **J Clin Exp Dent**, v. 5, n. 5, p. 279-86, 2013.
- DANTAS, A.S. e et al. Cell biology of *Candida albicans*–host interactions. **Curr Opin Microbiol.**, v. 34, p. 111-118, 2016.
- DUARTE, M.C.T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Rev. Multiciência**, n.7, 2006.
- EGGIMANN, P; GARBINO, J; PITTET, D. Management of *Candida* species infections in critically ill patients. **Lancet Infect Dis**, v. 3, n. 12, p. 772-785, 2003.

GENDREAU, L.; LOEWY, Z. G. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. **J. of Prosthodont**, v. 20, n. 4, p. 251–260, 2011.

GUIDO, R. V. C.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A.D. Virtual screening and its integration with modern drug design technologies. **Curr Med Chem**, v. 15, n. 1, p. 37-46, 2008.

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

HUBER, M.; TERÉZHALMY, G. (2011). Oropharyngeal candidiasis: etiology, epidemiology, clinical manifestations, diagnosis, and treatment. **Crest Oral-B**. Disponível em <<https://www.dentalcare.com/en-us/professional-education/ce-courses/ce400>>. [Acesso em 20/07/2018].

HARLEY, R.M. The Labiatae of Bahia: A preliminary checklist. **Sitientibus**, v. 15, p.11-21, 1996.

JORGE, A. O. C. et al. Presença de leveduras do gênero *Candida* na saliva de pacientes com diferentes fatores predisponentes e de indivíduos controle. **Rev Odontol Univ**, São Paulo, v. 11, n. 4, p. 279-285, out./dez. 1997.

LIMA, I. O. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 16, n. 2, p. 197-201, 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Rev. bras. plantas med**: nativas e exóticas. 2 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda., 2002.

MACHADO, T. B. et al. In vitro activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analogues, against methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Int J Antimicrob Agents**, v. 21, p. 279-284, 2003.

MAYER, F.L.; WILSON, D.; HUBE, B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. **Virulence**, v. 4, n. 2, p. 119-128, 2013.

MCLNTYRE, G. Oral candidosis. **Dent. Update**, v. 28, p.132-9, 2001.

MENEZES, F.S. et al. Phytochemical and pharmacological studies on *Raphiodon echinus*. **Fitoterapia**,v. 69, n.5, p.459-460, 1998.

MUZYCA, B. C. et al. Oral fungal infections. **Dent Clin N Am**, v. 49, p. 49–65, 2005.

NEVILLE, B. W. et al. **Patologia Oral e Maxilofacial**. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

NIIMI, M; FIRTH, N. A.; CANNON, R. D. Antifungal drug resistance of oral fungi. **Odontology**, v. 98, p. 15-25, 2010.

OLIVEIRA, A.G.F. **Derivados estruturais do peptídeo histatina-5: síntese e aplicação no tratamento de candidose bucal**. Trabalho de conclusão de curso. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista, Araquara, SP, 2014.

PAPPAS, P. G et al,. Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the infectious diseases society of America. **Clin Infect Dis**, v.15, n. 4, p. 1-50, 2016.

PASTER, BJ. et al. The breadth of the bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. **Periodontol 2000**, v. 42, p. 80-87, 2006.

PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. A. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. **Clin Microbiol Ver**, v. 20, n.1, p. 133-163, 2007.

PIRES, J. R.; MATARELI, S.; FERREIRA, R.G, et al. Espécies de *Candida* e a condição bucal de pacientes internados em unidade de terapia intensiva. **Rev. APCD**, v. 65, n.5, p. 332-337, 2011.

RAMAGE, G. et al. *Candida* biofilms: an update. **Eukaryot Cell**, v. 4, n. 4, p. 633-638, 2005.

REGEZI, J. A.; SCIUBBA, J. J; JORDAN, R. C. K. **Patologia Oral: correlações clinicopatológicas**. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2013.

SAMARANAYAKE, L. P; KEUNG LEUNG, W; JIN, L. Oral mucosal fungal infections. **Periodontol 2000**, v.. 49, p. 39–59, 2009.

SANTIN, R. **Potencial antifúngico e toxicidade de óleos essenciais da família lamiaceae**. Tese (Doutorado em Ciências Vetrinária)- Faculdade veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. Rio Grande do Sul, p.106. 2013.

STRAMANDINOLI, R.T. et al. Prevalência de candidose bucal em pacientes hospitalizados e avaliação dos fatores de risco. **Rev Sul-Bras Odontol**, V.7, n. 1, p. 66-72, 2010.

TARCIN, B. G. Oral candidosis: aetiology, clinical manifestations, diagnosis and management. **J Marmara Univers Inst Health Sci**, v, n. 2, p. 140-148, 2011.

TORRES, M. C. M. et al. Chemical Composition of the Essential Oils of *Raphiodon echinus* (Nees & Mart.) Schauer. **J. Essent Oil Bearing. Plants**, v. 12, n. 6, p. 674-677, 2009.

VAN DER PLAS, R. **Candidíase oral: Manifestações clínicas e tratamento**. Dissertação(Mestrado em Medicina Dentária) Faculdade de Ciências da Saúde Porto, Universidade Fernando Pessoa, Porto, p. 61, 2016.

WEBB, B.C. et al. *Candida* associated denture stomatitis. A etiology and management: A review part. 2. Oral diseases caused by *Candida*. **Aust Dent J**, v. 43, n. 3, p. 160-166, 1998.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA FASE ACETATO DE ETILA DA *Rhaphiodon echinus* CONTRA CEPAS DO GÊNERO *Candida spp*

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA FASE ACETATO DE ETILA DA *Rhaphiodon echinus* CONTRA CEPAS DO GÊNERO *Candida spp*

MARIA DE FÁTIMA VIEIRA ALVES¹, INGRIDY CRISTINY DE SOUZA MOREIRA¹
GABRIELA LEMOS DE AZEVEDO MAIA², EDELTRUDES DE OLIVEIRA LIMA³, HELOÍSA
MARA BATISTA FERNANDES DE OLIVEIRA⁴, ABRAHÃO ALVES DE OLIVEIRA FILHO⁵.

1. Acadêmico do curso de graduação do curso de odontologia da Universidade Federal de Campina Grande; 2. Professora Doutora , Disciplina química farmacêutica do curso Farmácia da Universidade Federal do Vale do São Francisco; 3. Professora Doutora , Disciplina análise clínicas do curso de Farmácia da Universidade Federal da Paraíba; 4. Doutora do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos da Universidade Federal da Paraíba; 5. Professora Doutor disciplina Bioquímica do curso de Odontologia da Universidade Federal da Paraíba

* Avenida Universitária, s/n, Santa Cecília, Patos, Paraíba, Brasil. CEP: 58940000.

cstr@cstr.ufcg.edu.br

Recebido em xx/xx/201x. Aceito para publicação em xx/xx/201x

RESUMO

A candidíase é uma doença comumente diagnosticada na cavidade bucal de pacientes usuários de prótese total. Para seu tratamento são utilizados diversos agentes antifúngicos, porém as limitações terapêuticas, baixa eficácia, e a elevada toxicidade são fatores importantes para a busca por uma alternativa viável para o tratamento dessa infecção. As pesquisas com plantas medicinais tem sido promissoras por apresentarem substâncias bioativas capazes de inibir o crescimento ou causar a mortalidade de microorganismos. A *Rhaphiodon echinus* comumente encontrada na caatinga é usada popularmente no tratatamento da tosse, inflamação da cavidade bucal, infecções no trato geniturinário. Diante da necessidade do conhecimento científico a respeito das propriedades presentes nas plantas medicinas este trabalho teve por objetivo investigar a possível atividade antifúngica da fase acetato de etila da *Rhaphiodon echinus* sobre cepas de *Candida Albicans*, *Candida Krusei* e *Candida tropicalis* utilizando o método de determinação da concentração inibitória Mínima (CIM) sobre a técnica de microdiluição em caldo. Como resultados obtivemos uma CIM variando entre 256 µg/mL a 1024 µg/mL, apresentando todas uma CIM 50% de 512 µg/mL, portanto este produto apresentou alta efetividade para inibir o crescimento fúngico, porém são necessárias mais pesquisas para se saber qual o seu mecanismo de ação.

PALAVRAS-CHAVE: Produtos naturais; Fitoterapia; Candida, Odontologia

ABSTRACT

Candidiasis is a disease commonly diagnosed in the oral cavity of patients with total prosthesis. Various antifungal agents are used for its treatment, however, therapeutic limitations, low efficacy, and high toxicity are important factors in the search for a viable alternative to the treatment of this infection. Research on medicinal plants has been promising because it contains bioactive substances capable of inhibiting growth or causing mortality of microorganisms. *Raphiodon echinus* commonly found in the caatinga is popularly used in the treatment of cough, inflammation of the oral cavity, infections in the genitourinary tract. In view of the need for scientific knowledge regarding the properties present in medicinal plants, this work aimed to investigate the possible antifungal activity of the ethyl acetate phase of *Raphiodon echinus* on strains of *Candida Albicans*, *Candida Krusei* and *Candida tropicallis* using the concentration determination method (MIC) on broth microdilution technique. As a result, we obtained a MIC ranging from 256 µg / mL to 1024 µg / mL, all of which had a MIC of 50% of 512 µg / mL, therefore this product showed high effectiveness to inhibit fungal growth, but more research is needed to know which its mechanism of action

KEYWORDS: Natural products; Phytotherapy; Candida, Dentistry.

1. INTRODUÇÃO

Cerca de 700 espécies de micro-organismos coabitam de forma harmônica a cavidade bucal dos seres humanos. Dentro desta complexa comunidade microbiana, encontra-se o gênero *Candida spp.* Quando ocorre um desequilíbrio nessa relação à *Cândida*, que antes era comensal e passa a ser um patógeno oportunista dá-se origem ao que chamamos de candidíase bucal. Esta é uma doença comumente encontrada na rotina odontológica principalmente de indivíduos portadores de prótese total (MCLNTYRE, 2001; PASTER et al., 2006).

Os principais fármacos utilizados no tratamento da candidíase são antifúngicos de uso local e sistêmico dos grupos azóis como o fluconazole, e os polienos como a nistatina. Porém a dissolução pela saliva, a movimentação da língua e da musculatura bucal normalmente reduzem a dose e as concentrações dessas substâncias, fazendo com que o tratamento seja prolongado e haja aumento nas dosagens e nas recidivas, dificultando assim a adesão do paciente ao tratamento. A maior dificuldade associada à utilização dos medicamentos antifúngicos é a resistência principalmente devido ao uso indiscriminado. Além disso, a baixa eficácia, o alto custo e a elevada toxicidade são fatores importantes para a busca por uma nova alternativa para o tratamento dessa infecção. (GUIDO; OLIVA; ANDRICOPULO, 2008; NIIMI; FIRTH; CANNON, 2010; OLIVEIRA, 2014).

Tendo em vista a necessidade da busca por novas terapêuticas, a pesquisa com plantas medicinais tem sido promissora. As substâncias liberadas pelas plantas medicinais durante o seu metabolismo secundário são conhecidas por atuarem diretamente ou indiretamente sobre as diversas células do organismo. O aumento pelo interesse nas plantas medicinais tem crescido e uso popular medicinal tem guiado as pesquisa ao encontro de novas substâncias com propriedades terapêuticas. Embora os produtos naturais sejam considerados de menor risco visto que são necessárias quantidades mínimas em relação às drogas sintéticas, para desempenharem efeitos terapêuticos, diminuindo a toxicidade. (SMET, 2004; CALIXTO, 2005; ARAÚJO et al., 2007).

Muitas espécies da família Lamiaceae, apresentam um grande número importantes de metabólitos secundários, sendo amplamente usado pela população devido suas propriedades terapêuticas. Um representante da família Lamiaceae é o gênero *Raphidodon*, constituído de uma única espécie, a *Raphidodon echinus* conhecida popularmente como flor de urubu ou betônica, que é comumente encontrada na vegetação da caatinga nos estados do Nordeste brasileiro. É uma erva com flores roxas e folhas longas de cabeça esférica. Na medicina popular a infusão das folhas de *Raphidodon echinus* são utilizadas para diversos fins terapêuticos como no tratamento da tosse, inflamação da cavidade bucal, infecções no trato geniturinário. Estudos mostraram que a *R. echinus* apresenta atividades antimicrobiana, antiinflamatória e analgésica e que suas propriedades podem ser atribuídas à sua atividade antioxidante. (MENEZES et al., 1998; TORRES et al., 2009).

Diante da elevada frequência das candidoses orais e de sua importância clínica é fundamental a investigação de alternativas terapêuticas sendo importante comprovar cientificamente os efeitos apresentados pelas plantas medicinais, avaliar *in vitro* a atividade antifúngica da fase acetato de etila da *Raphidodon echinus*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

ENSAIOS *IN VITRO*

Substância-teste

Para os ensaios foi utilizado o extrato das folhas de *Raphidodon echinus*, que foi cedido pela equipe da Profª. Drª. Gabriela Lemos de Azevedo Maia, da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF).

Espécies Fúngicas

Foram utilizadas quatro cepas de *Candida albicans* (ATCC 76645, LM 106, LM 108 e LM 111), previamente isoladas, identificadas e gentilmente cedidas pelo Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, sob a direção da Profª. Drª Edetrudes de Oliveira Lima.

Todas as cepas foram mantidas em ágar Sabouraud dextrose (ASD) a uma temperatura de 4°C, sendo utilizados para os ensaios repiques de 24 horas em ASD incubados a 35 °C. No estudo da atividade antimicrobiana foi utilizado um inóculo fúngico de aproximadamente $1 - 5 \times 10^6$ UFC/mL padronizado de acordo com a turbidez do tubo 0,5 da escala de McFarland (CLEELAND; SQUIRES, 1991; HADACEK, GREGER, 2000).

Meios de cultura

Foram utilizados os meios ágar Sabouraud dextrose - ASD (Difco Lab., USA) para manutenção dos micro-organismos; e caldo Sabouraud dextrose - CSD (Difco Lab., USA) para os ensaios *in vitro*; preparados conforme as instruções do fabricante.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A Concentração inibitória mínima do extrato de *Raphiodon echinusda fase* acetato de etila foi determinada pela técnica de microdiluição em caldo (CLEELAND; SQUIRES, 1991; HADACEK, GREGER, 2000). Foram utilizadas placas de 96 orifícios estéreis e com tampa. Em cada orifício da placa, foram adicionados 100 µL do meio líquido caldo Sabouraud dextrose duplamente concentrado. Em seguida, 100 µL do extrato na concentração inicial de 2048 µg/mL (também duplamente concentrado), foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. E por meio de uma diluição seriada em razão de dois, foram obtidas as concentrações de 1024 a 4 µg/mL, de modo que na primeira linha da placa encontra-se a maior concentração e na última, a menor concentração. Por fim, foi adicionado 10 µL do inóculo de aproximadamente $1-5 \times 10^6$ UFC/mL das espécies fúngicas nas cavidades, onde cada coluna da placa referiu-se a uma cepa fúngica, especificamente. As placas foram assepticamente fechadas e incubadas a 35°C por 24 - 48 horas para ser realizada a leitura. A CIM para o extrato é definida como a menor concentração capaz de inibir visualmente o crescimento fúngico verificado nos orifícios quando comparado com o crescimento controle. Os experimentos foram realizados em duplicata.

3. RESULTADOS

Nesse estudo, o método utilizado para determinar a CIM foi a microdiluição, apesar de existirem outros métodos como o difusão em ágar e macrodiluição o método empregado foi escolhido por ser uma técnica simples, de rápida avaliação, econômica e ter uma alta reprodutibilidade, além de permitir a utilização de pequenas quantidades de meio de cultura e diversas cepas fúngicas (CLEELAND; SQUIRES, 1991; ELOFF, 1998). Apartir dessa metodologia obtivemos os seguintes resultados, valores da CIM variando entre 1024 a 512 µg/mL para as cepas de *Candida albicans* (tabela- 1) e *Candida tropicalis* (tabela- 2), e para a *Candida krusei* variaram entre 1024 a 256 µg/mL, sendo que a CIM 50% foi de 512 µg/mL para todas as cepas estudadas apresentando segundo as tabelas forte atividade antifúngica.

Tabela 1. Concentração Inibitória Mínima (CIM) em µg/mL da fase acetato de etila *Rhaphiodon echinus* contra cepas de *Candida albicans*.

CEPA FÚNGICA	<i>Rhaphiodon echinus</i>
<i>Candida albicans</i>	CIM
ATCC 76645	1024 µg/mL
LM 106	512 µg/mL
LM 108	512 µg/mL
LM 111	512 µg/mL

(-) = Sem atividade Fonte: A autoria própria

Tabela 2. Concentração Inibitória Mínima (CIM) em µg/mL da fase acetato de etila *Rhaphiodon echinus* contra cepas de *Candida tropicalis*

CEPA FÚNGICA	<i>Rhaphiodon echinus</i>
<i>Candida tropicalis</i>	CIM
ATCC 13803	1024 µg/mL
LM 14	512 µg/mL
LM 31	512 µg/mL
LM 36	512 µg/mL

(-) = Sem atividade Fonte: A autoria própria

Tabela 3. Concentração Inibitória Mínima (CIM) em $\mu\text{g/mL}$ da fase acetato de etila *Rhaphiodon echinus* contra cepas de *Candida krusei*

<i>Rhaphiodon echinus</i>	
CEPA FÚNGICA	CIM
<i>Candida krusei</i>	
LM 978	256 $\mu\text{g/mL}$
LM 656	1024 $\mu\text{g/mL}$
LM 08	512 $\mu\text{g/mL}$
LM 13	-

(-) = Sem atividade Fonte: Autoria própria

4. DISCUSSÃO

Segundo Sartoratto et al., 2004, produtos com CIM entre 50 e 500 $\mu\text{g/mL}$ exibem forte atividade antifúngica, entre 600 e 1500 $\mu\text{g/mL}$ moderada atividade antifúngica, e acima de 1500 $\mu\text{g/mL}$ fraca atividade antifúngica o extrato das folhas de *Rhaphiodon echinus* contra cepas as de *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Candida tropicalis* apresentou uma CIM 50% de 512 $\mu\text{g/mL}$ demonstrando segundo esta classificação forte atividade antifúngica, para a maioria das cepas estudadas. Estes dados estão de acordo com outros estudos onde os autores analisaram a capacidade antifúngica do extrato hidroalcolico de *Mentha arvensis*, pertencente a família *Lamiaceae*, contra cepas de *Candida albicans* realizando três ensaios com métodos diferentes (métodos de difusão em ágar, macro e microdiluição em caldo). O autor em questão concluiu que o extrato de *Mentha arvensis* foi capaz de inibir o crescimento das cepas fúngicas de *Candida albicans*(LUND et al., 2012).

Resultados semelhantes foram registrados em pesquisas similares, onde revelaram que as cepas de *Candida krusei* e *Candida tropicalis* apresentava susceptibilidade para o óleo essencial da *Peumus boldus* espécie vegetal pertencente à família *Lamiaceae*. Porém, neste mesmo estudo observou-se que apenas uma cepa de *C.krusei* foi inibida (LIMA et al.,2006).

Em um estudo randomizado com 80 pacientes portadores de estomatite protética sobre a aplicação clínica de extratos vegetais no tratamento de candidíase bucal concluiu-se que o extrato de *Satureia hortensis* a 1% sob a forma de gel obtiveram resultados satisfatórios no tratamento da estomatite protética por 14 dias seguidos. O grupo experimental apresentou melhora significativa dos sintomas e contagem de colônias de *Candida spp* em relação ao grupo controle que recebeu placebo, revelando que essa substância pode ser eficaz no tratamento desse tipo de candidose, assim como nosso estudo (SABZGHABAE et al., 2012).

Dados da literatura apontam que o extrato de plantas medicinais como a *Pogostemon heyneanus* pertencente a família *Lamiaceae* podem ser uma alternativa promissora no tratamento da estomatite associada à prótese por apresentarem ação antifúngica, sendo utilizados principalmente na descontaminação de próteses dentárias. Porém são necessários mais estudos a respeito da toxicidade (BALLIANA, 2012).

O efeito observado neste estudo pode ser atribuídas a atividade antioxidante presente nesta planta

5. CONCLUSÃO

Com base nos dados obtidos na pesquisa, é possível observar que a fase acetato de etila da *Rhaphiodon echinus* apresentou propriedades que são capazes de inibir o crescimento frente às espécies de *Candida*. Sendo assim, torna-se uma alternativa promissora para o tratamento da candidíase por que objetiva ser um método eficaz com efeitos colaterais mínimos, menor toxicidade e maior biocompatibilidade além de suprir os problemas como resistência, ser de fácil acesso e baixo custo. Porém, são necessários mais estudos para avaliar o mecanismo de ação dessa substância e a real possibilidade de sua aplicação no tratamento dessa doença, sendo necessária a realização de estudos de cunho toxicológico e clínico para que este produto possa ser usado com segurança.

6. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba.

REFERÊNCIAS

- [1] McIntyre GT. Oral candidosis. *Dental Update* 2001; 28(3):132-9.
- [2] Paster, BJ, et al. The breadth of the bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontology* 2000 2006; 42: 80-87.
- [3] Guido RVC; Oliva G; Andricopulo AD. Virtual screening and its integration with modern drug design technologies. *Current Medicinal Chemistry* 2008; 15(1): 37-46.
- [4] Niimi M; Firth NA.; Cannon RD. Antifungal drug resistance of oral fungi. *Odontology* 2010; 98: 15-25.
- [5] Oliveira, AGF. Derivados estruturais do peptídeo histatina-5: síntese e aplicação no tratamento de candidose bucal. [tese] Araraquara: Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara da Universidade Estadual Paulista; 2014.
- [6] Smet PAGM. Health risks of herbal remedies: an update. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 2004; 76(1): 1-17.
- [7] Calixto JB. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view. *J of Ethnopharmacology* 2005; 100: 131-134.
- [8] Araújo EC, et al. Use of medicinal plants by patients with cancer of public hospitals in João Pessoa (PB). *Rev. Espaço para a Saúde* 2007; 8(2): 44-52
- [9] Menezes FS, et al. Phytochemical and pharmacological studies on *Raphiodon echinus*. *Fitoterapia* 1998; 69(5):.459-460.
- [10] Torres MCM, et al. Chemical Composition of the Essential Oils of *Raphiodon echinus* (Nees & Mart.) Schauer. *J. Essential Oil Bearing Plants* 2009; 12(6): 674-677.
- [11] Cleeland R; Squires; E. Evaluation of new antimicrobials *in vitro* and in experimental animal infections. In: Lorian, V. M. D. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. New York: Willians & Wilkins, p. 739-788, 1991

- [12] Hadacek F.; Greger H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. *Phytochemical Analyses* 2000; 11; 137-147.
- [13] Eloff JN. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Revista Planta Medica* 1998; 64(8);11-713.
- [14] Lima IO. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. *Rev. Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy* 2006;16(2): 197-201.
- [15] Lund RG., et al. In vitro study on the antimicrobial effect of hydroalcoholic extracts from *Mentha arvensis* L. (Lamiaceae) against oral pathogens. *Acta Scientiarum. Biological Sciences, Maringá* 2012; 34(4): 437-442.
- [16] Sartoratto A, et al. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Braz. J. of Microbiol* 2004;35(4): 275-280.
- [17] Sabzghabae A M, et al. A avaliação clínica do óleo essencial de "*Hortensis Satureia*" para o tratamento de estomatite protética. *Dent Res J* 2012; 9 (2):198-202.
- [18] Balliana RCS. Avaliação da atividade antifúngica de extratos vegetais e antissépticos bucais em *Candida albicans* [tese] Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde. Vitória; 2012.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos dados obtidos na pesquisa, é possível observar que a fase acetato de etila da *Rhaphiodon echinus* apresentou forte atividade antifúngica contra as cepas de *Candida Albicans*, *Candida Krusei* and *Candida tropicallis*, porém são necessários mais estudos para se saber a respeito do seu mecanismo de ação e estabelecer sua biodisponibilidade, toxicidade efeitos colaterais, via de administração e posologia.

Sendo assim, a *Rhaphiodon echinus* tem um futuro promissor como terapia efetiva no tratamento da candidíase bucal, podendo se tornar uma substância auxiliar na prática odontológica para tratar a candidíase.

INSIRA O TÍTULO EM PORTUGUÊS DO ESTUDO ORIGINAL

INSERT TITLE IN ENGLISH

NOME E SOBRENOME DO **AUTOR**¹, NOME E SOBRENOME DO **AUTOR**¹, NOME E SOBRENOME DO **AUTOR**¹, NOME E SOBRENOME DO **AUTOR**¹, NOME E SOBRENOME DO **AUTOR**^{2*}

1. Acadêmico do curso de graduação do curso X da Universidade Y; 2. Professor Doutor, Disciplina X do curso X da Universidade

* Insira o endereço do autor de correspondência com Rua/ Av. número, bairro, cidade, Estado, Brasil. CEP: 00000-000. email@mail.com.br
Preferencialmente, o orientador do estudo deverá ser designado para os diálogos com o Corpo Editorial do periódico **BJSCR**, fornecendo preferencialmente seus contatos profissionais

Recebido em xx/xx/201x. Aceito para publicação em xx/xx/201x

RESUMO

O resumo do manuscrito, em negrito, deve ter no máximo 200 palavras. O resumo deve ressaltar o fator motivador para a redação do trabalho, sendo composto por frases simplificadas (concisas), afirmativas, sem apresentação de itens enumerados com tópicos. Deverá ser redigido em parágrafo único. Símbolos que não sejam comumente utilizados, fórmulas, equações, diagramas, entre outros, devem ser evitados.

PALAVRAS-CHAVE: registre de 3 a 5 palavras-chave, separadas por ponto e vírgula (;).

ABSTRACT

O abstract, sem negrito, deve ser a tradução do resumo; assim, para evitar o retrabalho, faça o abstract apenas após ter finalizado o resumo.

KEYWORDS: as keywords, separadas por ponto e vírgula (;) devem ser as palavras-chave traduzidas para o inglês.

1. INTRODUÇÃO

Neste item, deve ser abordado o referencial teórico pesquisado para a elaboração do artigo.

Se necessário, o texto poderá ser subdividido por subtítulo(s) sugestivo(s), grafados com alinhamento à esquerda e em negrito e fonte Arial. A introdução deverá ser finalizada com a hipótese e o(s) objetivo(s) do estudo realizado, sem a necessidade de evidenciá-los em subtítulos.

Abaixo segue um modelo de parágrafo para que fique representado o modo de citação no padrão Vancouver, utilizado pelo periódico BJSCR.

Dotter & Judkins (1964)¹, descreveram pela primeira vez um procedimento de angioplastia com o uso de cateter de dilatação na circulação periférica, antevendo sua aplicabilidade na circulação coronária.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2010)², as doenças cardiovasculares são a principal causa de morte no mundo, além de contribuir significativamente com altas taxas de morbidade e elevados custos governamentais com saúde, nos dias de hoje³.

Apesar de suas limitações, é preciso considerar que os *stents* coronarianos promoveram o maior avanço da cardiologia intervencionista desde a criação da angioplastia coronariana por Andreas Grüntzig em 1979⁴, uma vez que propiciaram uma diminuição significativa de reestenose quando comparados com qualquer outra técnica de intervenção coronariana percutânea^{4,5}.

Akira *et al.* (1995)⁶ compararam a reestenose após o implante de *stents* em lesões >20 mm, encontrando índices de 24 a 39%, independentes do tipo de *stent*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os autores devem detalhar os recursos materiais e metodológicos utilizados para realização do trabalho.

Abreviaturas: para unidades de medida, utilize somente as unidades do Sistema Internacional de Unidades (SI). Utilize apenas abreviaturas e símbolos já padronizados, evitando incluí-las no título do manuscrito e no resumo. O termo completo deve preceder a abreviatura quando ela for empregada pela primeira vez, salvo no caso de

unidades comuns de medida.

4. RESULTADOS

Neste item os autores devem registrar seus dados numéricos. Figuras e Tabelas (se houver) deverão ser inseridas pelos autores no corpo do texto em local onde sua visualização facilite a compreensão do estudo apresentado.

- Se houver Figuras, recomenda-se que sejam coloridas, com numeração arábica progressiva. O título da figura deverá aparecer abaixo desta, seguido pela sua respectiva legenda, em fonte de tamanho 8. As figuras devem possuir resolução suficiente para visualização se a página for ampliada pelo leitor e estar no formato .JPG.

Não serão aceitas imagens fora de foco;

- Se apresentar Tabelas, o título desta deverá ser inserido sobre (acima) da Tabela, com numeração arábica progressiva, indicando, logo abaixo, a fonte da pesquisa (se houver), ou algum item de observação relevante para interpretação de seu conteúdo.

Os resultados apresentados em Tabelas não devem ser repetidos em gráficos, e vice-versa; No texto, a referência às Tabelas ou Figuras deverão ser feitas por algarismos arábicos. Note que não deverá ser feita inserção dos elementos denominando-os como: esquema, diagrama, gráfico etc. Os elementos gráficos do artigo necessariamente deverão ser chamados de Figura ou de Tabela.

5. DISCUSSÃO

Após a apresentação dos resultados, os autores deverão comentar sobre seus achados experimentais, contextualizando-os com os registros prévios na literatura científica especializada. Note que o item discussão não deve conter reapresentação de resultados, mas tão somente os comentários ou correlações entre os dados apresentados, e/ou entre os dados do estudo com a literatura especializada.

6. CONCLUSÃO

O(s) autor(es) deverá(ão) responder de modo afirmativo ou negativo sobre a hipótese que motivou a realização do estudo, por meio do alcance dos objetivos propostos. No último parágrafo, o(s) autor(es) poderá(ão) expressar sua contribuição reflexiva (de cunho pessoal), e/ou versar sobre as perspectivas acerca do estudo realizado. Este item não deve conter referências, pois deve expressar a opinião dos autores, com a devida fundamentação científica.

7. AGRADECIMENTOS FINACIAMENTO

OU

BJSCR (ISSN online: 2317-4404)

O(s) autor(es) deve(m) indicar a(s) fonte(s) de financiamento da pesquisa (agências de fomento, empresas, etc.), agradecer à instituições ou pessoas que viabilizaram o estudo, sem necessariamente apresentarem-se como autores.

8. REFERÊNCIAS

Os títulos de periódicos devem ser abreviados de acordo com o *Index Medicus (List of Journals Indexed in Index Medicus)*, disponível em <http://www.nlm.nih.gov>). Utilize fonte Times New Roman de tamanho 9. Listar todos os autores quando até três; quando forem quatro ou mais, listar os três primeiros, seguidos de *et al.* (em itálico). As referências são de responsabilidade dos autores e devem estar de acordo com os originais.

Exemplos de referências:

LIVROS:

Vellini-Ferreira F. Ortodontia: diagnóstico e planejamento clínico. 3ª ed. São Paulo: Artes Médicas; 1999.

[1] Kane AB, Kumar V. Patologia ambiental e nutricional. In: Cotran RS. Robbins: patologia estrutural e funcional. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.

PERIÓDICOS CIENTÍFICOS:

[1] Ong JL, Hoppe CA, Cardenas HL, *et al.* Osteoblast precursor cell activity on HA surfaces of different treatments. J Biomed Mater Res 1998; 39(2):176-83.

WEBSITES:

[1] World Health Organization. Oral health survey: basic methods. 4th ed. Geneve: ORH EPID; 1997. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Imunoterapia. [acesso 11 mar. 2012] Disponível em: <http://inca.gov.br/tratamento/imunoterapia.htm>

MONOGRAFIAS, DISSERTAÇÕES E TESES:

[2] Mutarelli OS. Estudo in vitro da deformação e fadiga de grampos circunferenciais de prótese parcial removível, fundidos em liga de cobalto-cromo e em titânio comercialmente puro. [tese] São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo; 2000.

ANAIS DE EVENTOS OU ENCONTROS CIENTÍFICOS:

[3] Ribeiro A, Thylstrup A, Souza IP, Vianna R. Biofilme e atividade de cárie: sua correlação em crianças HIV+. In: 16ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica; 1999; set 8; Águas de São Pedro. São Paulo: SBPqO; 1999.