



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CURSO DE BACHARELADO EM ODONTOLOGIA

VITON DYRK GUIMARÃES FERNANDES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO
METANÓLICO DE *Psidium guineense* (Myrtaceae) CONTRA
CEPAS DO GÊNERO CANDIDA**

PATOS-PB

2023

VITON DYRK GUIMARÃES FERNANDES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO
METANÓLICO DE *Psidium guineense* (Myrtacea) CONTRA
CEPAS DO GÊNERO CANDIDA**

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

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

PATOS-PB

2023

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema Integrado Bibliotecas – SISTEMOTECA/UFMG

F363a

Fernandes, Viton Dyrk Guimarães

Avaliação da atividade antifúngica do extrato metanólico de *Psidium guineense* (*Myrtaceae*) contra cepas do gênero *Candida*. / Viton Dyrk Guimarães Fernandes. – Patos, 2023.

38 f.

Orientador: Abrahão Alves de Oliveira Filho.

Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Unidade Acadêmica de Odontologia.

1. Fitoterapia. 2. Farmacologia. 3. Odontologia. I. Oliveira Filho, Abrahão Alves de, *orient.* II. Título.

CDU 616.314:633.88

VITON DYRK GUIMARÃES FERNANDES

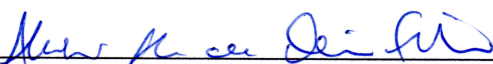
**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO
METANÓLICO DE *Psidium guineense* (Myrtacea) CONTRA
CEPAS DO GÊNERO CANDIDA**

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

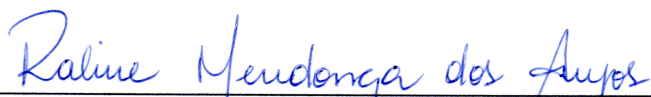
Orientador: Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho.

Aprovado em: 23/05/23


BANCA EXAMINADORA



Prof.^o Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho – Orientador
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG



Prof.^a Dra. Raline Mendonça dos Anjos – 1^o membro
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG



Prof.^o Dr. Julierme Ferreira Rocha – 2^o membro
Universidade Federal de Campina Grande - UFCG

A priori dedico a conclusão desse trabalho e do curso de Odontologia à Deus, que me guiou e me fortaleceu durante toda caminhada acadêmica e a minha família, especialmente, a minha mãe Alexsandra Bandeira e minhas avós Terezinha Bandeira e Maria José (*in memoriam*), por serem meus pilares de vida e por sempre acreditar e compartilhar desse sonho que agora se concretiza, me guardando sempre em suas orações.

AGRADECIMENTOS

À Deus toda honra e toda glória sejam dadas, por sua infinita bondade remistes o mundo e sobretudo a minha vida, o Senhor me honrou, me sustentou e me guiou durante toda a caminhada para um sonho que se concretiza.

À minha mãe Alexsandra Bandeira e minha avó Terezinha Bandeira, sou eternamente grato, pois a força e o amor de vocês para comigo sempre foram minha maior inspiração, suas orações me protegeram, me iluminaram e me guiaram em todos os momentos de dúvidas, dificuldades e de conquistas.

Ao meu padrasto Nailson Fernandes, agradeço por todo apoio e ensinamentos, fostes figura forte de um pai em minha vida e acima de tudo o meu melhor amigo, sempre disposto a me ajudar, o seu caráter e sua coragem de buscar seus objetivos são admiráveis e inspiradores.

Ao meu pai Celmo Marinho, agradeço por sempre confiar no meu caráter e idoneidade, me apoiar e me ajudar à sua maneira.

Ao meu irmão Isaac Bandeira, agradeço por todo carinho, amizade, cumplicidade e paciência por todas as vezes que não pude estar presente em suas brincadeiras e momentos escolares. Tudo isso foi por um motivo maior e sei o quanto se orgulha de mim nesse momento.

Aos meus tios Elias, Djanira, Socorro, Fátima, Selma e Francisca, por todo amor, força, e empenho em minha formação, vocês são muito importantes nessa conquista e essenciais em minha vida, agradeço pelo zelo e carinho para comigo.

À minha namorada Ana Beatriz Bomfim, que sempre esteve ao meu lado durante todos os momentos de minha formação e sempre acreditou em mim quando eu menos acreditava, que sempre teve paciência e me ajudou quando estive aflito seja com a graduação ou com a rotina do dia a dia, sendo uma grande companheira, amiga e conselheira, minha eterna gratidão.

Agradeço a todos da minha família, que sempre acreditaram nos meus sonhos e torcem pelo meu sucesso. Agradeço por dividirem comigo todo esse processo e aguardarem ansiosamente por esse momento.

Agradeço ao meu amigo Yuri José, por ter sido minha dupla durante a graduação e ter compartilhado muitos momentos de dificuldade, alegria e conquistas ao longo desses anos. Agradeço toda parceria, confiança e amizade que com certeza se manterá para a vida.

Agradeço aos meus irmãos de graduação, Fabrício, Lucas, André, Vinicius, Matheus, João Marcos, Ruberdson, Ângelo e Paulo Guilherme, por serem grandes amigos e pessoas humildes, que me acolheram e tornaram os dias leves e descontraídos nesse processo. Levarei a nossa amizade a qualquer lugar, estaremos juntos sempre.

Agradeço ao meu orientador, Dr. Abrahão Alves, por compartilhar todos os seus conhecimentos e experiência, por guiar o meu caminho em busca dos meus objetivos, e pela oportunidade de participar da Liga Acadêmica de Fitoterapia, Bioquímica e Microbiologia (LAFBIM), um projeto que abriu inúmeras portas em minha formação e que com certeza muitas outras irão se abrir nesse novo ciclo que se inicia. Sua humildade, carinho e atenção para com seus alunos o faz grande, e serás sempre uma fonte de inspiração.

Agradeço especialmente ao professor Dr. Julierme Ferreira, por todos os seus ensinamentos e conhecimentos compartilhados, por toda a confiança em mim depositada, sou grato pela oportunidade de participar da Liga Acadêmica de Cirurgia (LAC) que é um grande projeto, no qual pude ser capacitado a vivenciar experiências únicas através da cirurgia e que levarei para sempre. Guardo com muito carinho todo o aprendizado e os conselhos repassados, sua maestria e paixão pela cirurgia, especialidade a qual tanto almejo, é fonte de admiração e me inspiram a trilhar por esse caminho.

Agradeço a professora Dr^a. Raline Mendonça, por participar da minha banca avaliadora e por todos os ensinamentos e colaboração durante o desenvolvimento do meu projeto de pesquisa na LAFBIM, grato por todo apoio.

Agradeço a todos os demais professores, servidores e colaboradores que fazem a Universidade Federal de Campina Grande, sou grato por todos os ensinamentos e suporte durante todos esses anos de minha formação, sempre levarei com muito orgulho o nome dessa instituição.

Por fim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram com a realização deste grande sonho.

“A vida é oportunidade. O que fazemos com ela cabe a cada um de nós, acertamos e erramos. Na vitória, recebemos a celebração. Na derrota, o aprendizado. A vida sempre é generosa e oferece novos recomeços. A cada dia que passa, iniciamos um novo caminho, e neste ciclo, alimentamos sonhos que nunca morrem, independente dos tropeços da jornada.”

Edson Arantes do Nascimento (Pelé)

RESUMO

A candidíase é a infecção fúngica mais comum da cavidade oral, tendo como fator etiológico a proliferação e o crescimento de microrganismos do gênero *Candida*. Os fungos *Candida* compõem a diversificada microbiota da cavidade bucal vivendo em relação comensal inofensiva com o hospedeiro e podendo colonizar diferentes habitats como mucosas e pele. Diversos medicamentos antifúngicos vêm sendo utilizados para o tratamento da candidíase, tais como, antifúngicos azóis (cetoconazol, fluconazol) e antifúngicos poliênicos (nistatina, anfotericina B), no entanto, diversos desafios têm sido observados quanto à eficácia do tratamento medicamentoso. Com isso, o uso de plantas medicinais apresenta-se como uma alternativa viável e promissora para a descoberta de novos agentes fitofármacos de grande potencial biológico. Embasado em estudos da literatura que evidenciam as características físico-químicas e etnofarmacológicas das espécies de plantas medicinais, esta pesquisa objetivou avaliar a atividade antifúngica do extrato metanólico de *Psidium guineense* (Myrtaceae). O estudo se deu através da realização de ensaios *in vitro* onde foi utilizado como substância-teste o extrato metanólico de *Psidium guineense* frente as espécies fúngicas de *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei* previamente identificadas e mantidas em meios de cultura de ágar Sabouraud dextrose (ASD) e caldo Sabouraud dextrose (CSD). Ademais, para realização do controle positivo foi empregado a nistatina como antifúngico padrão. Realizou-se a técnica de microdiluição em caldo para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato metanólico de *Psidium guineense*, todas as análises e testes foram efetuados em duplicata. Diante disso, obteve-se como resultado o valor de CIM superior à 1024 µg/mL, indicando que o extrato metanólico de *Psidium guineense* não apresentou atividade antifúngica mediante a metodologia utilizada frente às cepas testadas.

Palavras-chaves: Fitoterapia, Farmacologia, Odontologia.

ABSTRACT

Candidiasis is the most common fungal infection of the oral cavity, and its etiological factor is the proliferation and growth of microorganisms of the genus *Candida*. *Candida* fungi make up the diverse microbiota of the oral cavity, living in a harmless commensal relationship with the host and being able to colonize different habitats such as mucosa and skin. Several antifungal drugs have been used for the treatment of candidiasis, such as azole antifungals (ketoconazole, fluconazole) and polyene antifungals (nystatin, amphotericin B). Therefore, the use of medicinal plants presents itself as a viable and promising alternative for the discovery of new phytopharmaceutical agents with great biological potential. Based on literature studies that show the physical-chemical and ethnopharmacological characteristics of medicinal plant species, this research aimed to evaluate the antifungal activity of the methanolic extract of *Psidium guineense* (Myrtaceae). The study was performed through in vitro assays where the methanolic extract of *Psidium guineense* was used as test substance against the fungal species *Candida albicans*, *Candida tropicalis* and *Candida krusei* previously identified and maintained in culture media of Sabouraud dextrose agar (SDA) and Sabouraud dextrose broth (SSD). In addition, nystatin was used as the standard antifungal for the positive control. The microdilution broth technique was used to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of *Psidium guineense* methanolic extract. Thus, it was obtained as a result the MIC value higher than 1024 µg/mL, indicating that the methanolic extract of *Psidium guineense* had no antifungal activity by the methodology used against the strains tested.

Keywords: Phytotherapy, Pharmacology, Dentistry.

LISTA DE TABELAS

Tabela I. Concentração Inibitória Mínima (CIM) em µg/mL do extrato de <i>Psidium guineense</i> contra cepas de <i>C. albicans</i>	26
Tabela II. Concentração Inibitória Mínima (CIM) em µg/mL do extrato de <i>Psidium guineense</i> contra cepas de <i>C. tropicalis</i>	26
Tabela III. Concentração Inibitória Mínima (CIM) em µg/mL do extrato de <i>Psidium guineense</i> contra cepas de <i>C. krusei</i>	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

ASD – Ágar Sabouraud Dextrose

CGEN – Conselho de Gestão do Patrimônio Genético

CIM – Concentração Inibitória Mínima

CSD – Caldo Sabouraud Dextrose

CSTR – Centro de Saúde e Tecnologia Rural

DMSO – Dimetilsulfóxido

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

OMS – Organização Mundial da Saúde

SISGEN – Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado

UACB – Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas

UFC – Unidade Formadora de Colônia

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	14
REFERÊNCIAS.....	18
3. ARTIGO.....	23
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	29
ANEXO A – NORMAS DE SUBMISSÃO DA REVISTA.....	30
ANEXO B – TEMPLATE DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA EJMED.....	34

1 INTRODUÇÃO

A candidíase é uma infecção fúngica oportunista causada por microrganismos do gênero *Candida*, o qual apresenta cerca de 200 espécies distintas de leveduras, sendo os principais agentes de acometimento humano as espécies *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. krusei*. O gênero *Candida* é composto por espécies cosmopolitas que colonizam a pele e as mucosas dos seres humanos, onde o seu principal sítio de colonização é o trato gastrointestinal, desde a boca até o reto, e que frequentemente podem ser isoladas da uretra e vagina (NUNES, 2017).

Esses fungos incorporados a uma matriz de substâncias poliméricas compõem o biofilme, e essa associação favorece as trocas metabólicas e genéticas inter e intra-espécies. Com isso, os microrganismos na forma de biofilme são menos susceptíveis aos antimicrobianos que na forma planctônica. Outrossim, as leveduras do gênero *Candida* podem tornar-se patogênicas, apresentando capacidade de aderir, colonizar e formar tubos germinativos na mucosa do hospedeiro (CORADI TONON *et al.*, 2019).

A transição das cepas de *Candida* de um estado comensal inofensivo para um estado patogênico depende fortemente de vários fatores predisponentes. Assim, muitas condições debilitantes estão envolvidas em várias formas clínicas da candidíase como, o crescente uso de agentes imunossupressores, discrasias sanguíneas, deficiências nutricionais e a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). Indivíduos imunossuprimidos possuem maior probabilidade de acometimento e a baixa imunidade mesmo após o tratamento, poderá apresentar recidivas da afecção fúngica (RAIMUNDO e DE TOLEDO, 2017).

Inúmeros fatores sistêmicos, locais e genéticos contribuem para as desordens na homeostase da cavidade oral. Conseqüentemente, ocorre indução a proliferação excessiva de *Candida* e a mudança na expressão de seus fatores de virulência e o estabelecimento da candidíase oral como micose oportunista. A espécie mais comum presente na microbiota oral normal e infectada é a *C. albicans*, representando cerca de 80% dos isolados de fungos orais. A candidíase oral, especificamente, tem várias manifestações clínicas compreendendo desde distúrbios mucocutâneos superficiais até uma infecção invasiva que afeta vários órgãos (FREIRE *et al.*, 2016; TALAPKO *et al.*, 2021).

Por ser reconhecida como a infecção oral mais comum em indivíduos altamente imunossuprimidos, a candidíase oral é amplamente associada a contagem de células T CD4⁺ e sua colonização serve de marcador para progressão da infecção e preditivo do aumento da imunossupressão. Na infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), a candidíase oral

pode levar a complicações secundárias mais angustiantes como é o caso da candidíase esofágica, sendo considerada uma micose oportunista definidora da AIDS, embora possa acometer pacientes imunocompetentes (DA CÂMARA MELO, 2020).

Diversos medicamentos sintéticos vêm sendo desenvolvidos para terapêutica da candidíase oral como os antissépticos à base de iodoquinol, derivados sulfamídicos, quinonas e antifúngicos poliênicos (nistatina e anfotericina B). Além desses, destacam-se ainda os antifúngicos azóis que são agentes do imidazol (cetoconazol e clotrimazol) e os agentes triazóis (fluconazol e itraconazol). Contudo, o tratamento das infecções fúngicas é de difícil eficácia devido à alta resistência das espécies de *Candida* a ação farmacológica dos antifúngicos convencionais e a subdosagem que frequentemente leva ao tratamento prolongado e altas taxas de recorrência da doença (FERREIRA *et al.*, 2019).

Com efeito, a utilização da Fitoterapia em suas variadas formas de apresentação como, chás, infusos, pomadas, géis e medicamentos fitoterápicos, se mostra uma alternativa viável aos profissionais de saúde para prevenção e tratamento de diversas patologias. Estudos científicos que investigam as propriedades químicas e farmacológicas das plantas medicinais, permitem sua indicação como opção terapêutica de baixo custo, baixa toxicidade e mínimos efeitos colaterais, quando usado ou aplicado corretamente (UGUÑA, LEÓN, CHACHA, 2018; REINHARDT *et al.*, 2019).

Entre as diversas plantas de uso medicinal destaca-se a família Myrtaceae que compreende cerca 132 gêneros e 5671 espécies de árvores e arbustos, distribuídos em todos os domínios fitogeográficos brasileiros. Nesta família está presente o gênero *Psidium* e a espécie *Psidium guineense*, conhecida popularmente como araçá, no qual, estudos biológicos realizados com essa ferramenta vegetal já comprovaram o seu potencial farmacológico, tendo inclusive, resultados *in vitro* positivos para as atividades antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória e antiproliferativa do óleo essencial das folhas de *Psidium guineense*. Além de, eficácia contra disfunções gastrointestinais (cólicas intestinais, diarreia, gastroenterite e gastrite) e doenças do trato urogenital (DO NASCIMENTO *et al.*, 2018).

Deste modo, embasado no potencial biológico e científico da fitoterapia e na indubitável necessidade de alternativas terapêuticas para o tratamento da candidíase oral, esse trabalho procura avaliar a possível atividade antifúngica do extrato metanólico de *Psidium guineense* sobre cepas do gênero *Candida*.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A cavidade oral apresenta aproximadamente 700 espécies de microrganismos distintos que formam uma das mais complexas microbiotas do organismo humano. Os fungos do gênero *Candida spp.*, constituem a micobiota oral normal vivendo como comensais inofensivos que colonizam diferentes habitats nos seres humanos, como pele e mucosas (IBÁÑEZ MANCERA, BONILLA, AYALA, 2017; CORADI TONON *et al.*, 2019).

Contudo, a candidíase é a infecção fúngica bucal mais prevalente e acomete principalmente a língua, o palato e a mucosa jugal. Sua etiopatogenia é relacionada as leveduras do gênero *Candida*, constituinte da microflora bucal residente. Considera-se a *Candida albicans* a espécie de maior patogenicidade devido sua predominância em isolados fúngicos. Entretanto, espécies de *Candida* não-*albicans* também estão associadas à sua patogênese, como a: *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. krusei*. Tal patologia, destaca-se entre a população geriátrica como um dos três principais motivos de consulta odontológica, seguido das lesões potencialmente malignas, câncer e processos inflamatórios orais (IBÁÑEZ MANCERA, BONILLA, AYALA, 2017; TEODORO, FERNANDES, 2020).

Em condições fisiológicas os fungos apresentam simbiose com o hospedeiro, no entanto, a candidíase se estabelece na presença de fatores que comprometam a resposta imunológica, o que pode gerar microambientes diferentes e, portanto, condições variadas de crescimento e morfologia das células fúngicas. Esses requisitos incluem situações sistêmicas, como: discrasias sanguíneas (leucemia, linfomas), desnutrição, uso prolongado de corticoides, quimioterapia, radioterapia e a AIDS, bem como fatores locais do tipo xerostomia, próteses intraorais e higiene oral deficiente que podem modificar a microbiota (RODRIGUES, 2020).

Não obstante, também pode acometer indivíduos nos extremos da idade (crianças ou idosos) por apresentar o sistema imunológico comprometido ou pouco desenvolvido como os neonatos, e por esse motivo é uma condição de impacto na neonatologia, pois apresenta uma prevalência de acometida de 2 a 20% dos recém-nascidos prematuros (GAMA *et al.*, 2018).

Suryana, Suharsono e Antara (2020) em um estudo de caso-controle contendo uma amostra de 448 indivíduos, concluíram que os fatores de risco estatisticamente associados ao desenvolvimento da candidíase oral foram: idade maior que 34 anos, predileção pelo sexo masculino, xerostomia, tabagismo e etilismo que aumentou em 7 e 6 vezes respectivamente os casos de candidíase oral, uso de antibióticos de amplo espectro por mais de 7 dias, contagem de CD4 (<108 células/ μ L) e AIDS (estágio clínico avançado) tiveram um maior risco de acometimento.

O tratamento da candidíase consiste na combinação de antifúngico tópico ou sistêmico que inclui principalmente agentes imidazóis, triazóis e polienicos. As drogas azólicas inibem a síntese do ergosterol, componente importante da membrana celular e, portanto, destroem o arcabouço da célula fúngica. São agentes derivados do imidazol o clotrimazol, cetoconazol e miconazol, e dos triazóis fluconazol e itraconazol. Os agentes polienicos incluem a nistatina e anfotericina B, que se liga ao ergosterol resultando em alterações na permeabilidade celular, lise e necrose. Entretanto, dada a natureza prolongada e recorrente da terapia antifúngica tradicional é notório o aumento da resistência dos fungos e a ocorrência de reações adversas devido o potencial tóxico de algumas drogas como é o caso da anfotericina B (DIAS *et al.*, 2018; FANG; HUANG; DING, 2020).

De acordo com Santos *et al.* (2017), apesar da existência de vários agentes antifúngicos sintéticos para tratamento da candidíase, evidencia-se a crescente resistência dos agentes infecciosos a essas medicações, e os diversos efeitos colaterais relacionados motivando pesquisadores a buscar novas opções de tratamento, sendo produtos de origem vegetal muito estudados devido à baixa toxicidade relacionada ao uso da medicina tradicional.

Os extratos vegetais são ferramentas comuns em indústrias farmacêuticas e de perfumarias, constituindo manipulações concentradas que podem estar na forma líquida, viscosa ou em pó e que são obtidos a partir das partes secas da planta através de maceração, percolação, entre outros métodos. A extração dos constituintes bioativos envolve um processo físico-químico de transferência de massas em que sólidos solúveis e voláteis são arrastados pelo contato entre solvente e soluto. A escolha do solvente depende do que se pretende obter com o arrasto dos componentes fitoquímicos, os extratos metanólicos apresentam boa capacidade de extrair terpenóides e saponinas que possuem efeitos farmacológicos comprovados para atividade anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana e antifúngica (DA SILVA, 2021).

As moléculas isoladas de produtos naturais podem contribuir para o desenvolvimento de novos fitofármacos e para a produção de novas formulações, com menos efeitos colaterais, amplo espectro de ação e menor custo. A atividade antimicrobiana de extratos vegetais é avaliada através da determinação de uma pequena quantidade da substância necessária para inibir o crescimento do microrganismo-teste; esse valor é conhecido como Concentração Inibitória Mínima (CIM). A mistura complexa de diversos componentes químicos obtida nos extratos, atua de maneira sinérgica, colaborando na atividade biológica e terapêutica sendo capaz de resultar na recuperação da saúde e no auxílio a qualidade de vida (FREIRE *et al.*, 2016; AZAB, NASSAR e AZAB, 2016; DE MORAIS LIMA *et al.*, 2017).

As terapias complementares são práticas terapêuticas que possibilitam a complementação da prática alopática tradicional. As ervas medicinais tem sido utilizada em diversas doenças de forma eficaz desde os primórdios da civilização, sobrevivendo até hoje. Reconhecendo o amplo uso desses tratamentos a Organização Mundial da Saúde (OMS) preocupa-se com a qualidade e segurança na oferta de produtos e práticas alternativas e complementares, incentivando a regulamentação e criação de políticas nacionais nesse âmbito (LOPES *et al.*, 2018).

Com efeito, o ecossistema brasileiro é considerado uma área prioritária para conservação da biodiversidade global, para hospedar um número estimado de 837 espécies de aves, 161 espécies de mamíferos, 150 espécies de anfíbios e 120 espécies de répteis e altas concentrações de plantas endêmicas. Entre a diversidade de espécies vegetais endêmicas, destacamos aquelas pertencentes à família Myrtaceae. A importância ecológica dessa família nos diferentes biomas do Brasil foi confirmada em vários aspectos florísticos, filogenéticos e estudos ecológicos fitossanitários (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

A família Myrtaceae compreende 132 gêneros e 5671 espécies de árvores e arbustos, distribuídos principalmente em climas tropicais e subtropicais da América do Sul, Austrália e Ásia Tropical. É uma das famílias mais proeminentes do Brasil, representadas por 23 gêneros e 1034 espécies, com ocorrência em todas as regiões do país. O gênero *Psidium* se destaca com pelo menos 60 a 100 espécies, ocorrendo do México e do Caribe à Argentina e Uruguai, sendo naturalmente um gênero americano (FIGUEIREDO *et al.*, 2018).

Dentre as espécies que compõem essa família, destaca-se o araçá (*P. guineense*), uma espécie frutífera do tipo baga com casca amarela, vermelha ou roxa e rica em minerais e elementos funcionais, como ácido ascórbico e compostos fenólicos. Essa planta varia de 70 cm a 10 m de altura e apresenta caule com casca lisa, folhas simples e com margens levemente onduladas. O araçá tem despertado o interesse dos diferentes nichos socioeconômicos, sobretudo pela aceitação do público em geral para o sabor do seu fruto, presente nos mais variados produtos comerciais. Na indústria farmacêutica, estudos apontam a ampla riqueza genética e bioterapêutica dessa espécie, como objeto de importantes pesquisas para o campo das tecnologias em saúde e por apresentar propriedades antioxidantes, diurética e antidiarreica (FIGUEIREDO *et al.*, 2018; RODRIGUES-SILVA *et al.*, 2021).

Estudos fitoquímicos evidenciaram que a composição química de *P. guineense* varia de 38 a 181 compostos bioativos, sendo os terpenos a classe de maior predominância destacando-se o espatulenol (80,71%), limoneno (47,4%), α -pineno (35,6%), β -cariofileno (8,6%-24,4%) e epi- β -bisabolol (18,1%). Esse achado pode contribuir para seleção específica de produtos de

extração com atividades biológicas significativas visto que, a capacidade antioxidante de *P. guineense* pode surgir da ação sinérgica de compostos fenólicos presentes na sua formulação ou de um componente específico como o ácido ascórbico presente na planta. Ademais, os efeitos antiproliferativo e antimicrobiano são relacionados a presença majoritária do espatulenol entre os principais constituintes do óleo essencial de *P. guineense* (MACEDO *et al.*, 2021).

Dados da literatura científica reforçam o potencial biológico do araçá (*P. guineense*), uma vez que importantes atividades foram atribuídas aos frutos e folhas dessa espécie como: antioxidante, antimicrobiano e antiproliferativo em células tumorais humanas. Porém, existe na literatura uma escassez de informações referentes a atividade antifúngica do extrato metanólico de *Psidium guineense* frente as cepas do gênero *Candida* em infecções da cavidade oral.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, M. A. *et al.* Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 2, 399-408, jun. 2012.
- ANDREOLA, P. *et al.* Estudo comparativo entre a produção de fosfolipases extracelulares e proteinases do gênero *Candida* isoladas a partir de infecções de cavidade oral. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 45, n. 4, 219-226, ago. 2016.
- AZAB, A.; NASSAR, A.; AZAB, A. Anti-inflammatory activity of natural products. **Molecules**, v. 21, n. 10, 1302-1321, out. 2016.
- BADKE, M. R. *et al.* O conhecimento de discentes de enfermagem sobre uso de plantas medicinais como terapia complementar. **Revista Online de Pesquisa: Cuidado é Fundamental**, v. 9, n. 2, 459-465, jun. 2017.
- BAUMGARDNER, D. J. Oral Fungal Microbiota: To Thrush and Beyond. **Journal of patient-centered research and reviews**, v. 6, n. 4, p. 252, out. 2019.
- BARBOSA, M. B; FARIA, M. G. I. Produtos naturais como nova alternativa terapêutica para o tratamento de candidíase bucal. **Revista Uningá**, v. 20, n. 1, dez. 2014.
- CALDEIRA, S. D. *et al.* Caracterização físico-química do araçá (*Psidium guineense* Sw.) e do tarumã (*Vitex cymosa* Bert.) do estado de Mato Grosso do Sul. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 22, n. 1, jun. 2004.
- CLEELAND, R.; SQUIRES, E. Evaluation of new antimicrobials *in vitro* and in experimental animal infections. **Antibiotics in Laboratory Medicine**, v. 14, n. 2, p. 739-788, mai. 1991.
- CORADI TONON, C. *et al.* Atividade antifúngica do a-terpinen sobre *Candida albicans*. **Revista Estomatológica Herediana**, v. 29, n. 2, p. 107-114, jun. 2019.
- DA CÂMARA MELO, M. C. **Infeções orais oportunistas e neoplasias em pacientes portadores de HIV**. 2020. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Dentária), Universidade do Porto, Porto, 2020.
- DA SILVA, Antonia Isabelly *et al.* Perfil fitoquímico de extratos etanólicos e metanólicos do *Croton blanchetianus*. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 24, n. 1, p. 134-142, mar. 2021.

DE CASTRO, R. D.; DE OLIVEIRA LIMA, E. Atividade antifúngica in vitro do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* L. sobre *Candida* spp. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 39, n. 3, p. 179-184, jun. 2010.

DE MORAIS LIMA, G. R. *et al.* Anti-inflammatory intestinal activity of *Combretum duarteanum* Cambess. in trinitrobenzene sulfonic acid colitis model. **World journal of gastroenterology**, v.23, p.1353–1366, fev. 2017.

DIAS, I. J. *et al.* Antifungal activity of linalool in cases of *Candida* spp. isolated from individuals with oral candidiasis. **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, n. 2, p. 368-374, ago. 2018.

DO NASCIMENTO, K. F. *et al.* Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol. **Journal of ethnopharmacology**, 210, p. 351-358, 01/10/2018, out. 2018.

FANG, J.; HUANG, B.; DING, Z. Efficacy of antifungal drugs in the treatment of oral candidiasis: A Bayesian network meta-analysis. **The Journal of prosthetic dentistry**, fev. 2020.

FERREIRA, J. L. S. *et al.* Comparação da atividade antifúngica dos extratos etanólico e aquoso de *Rhaphiodon echinus* (Lamiaceae) contra cepas de *Candida albicans*. **Revista Uningá**, v. 56, n. 3, p. 1-8, set. 2019.

FIGUEIREDO, P. L. B. *et al.* Chemical variability in the essential oil of leaves of Araçá (*Psidium guineense* Sw.), with occurrence in the Amazon. **Chemistry Central Journal**, v. 12, n. 1, p. 52, mai. 2018.

FREIRE, J. C. P. *et al.* Atividade antifúngica de fitoterápicos sobre candidose oral: uma revisão de literatura. **Salusvita**, 35, n. 4, p. 537-546, dez. 2016.

GAMA, M. R. D. *et al.* Candidíase pseudomembranosa oral em neonato: relato de caso. **Revista da AcBO**, v. 7, n. 2, mar. 2018.

GUERRA, F. Q. S. *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of *Cinnamomum zeylanicum* Blume essential oil on multi-drug resistant *Acinetobacter* spp. strains. **Biofarm**, v. 8, n. 1, p. 62-70, jan. 2012.

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

IBÁÑEZ MANCERA, N. G.; BONILLA, C. R.; AYALA, J. L. Frecuencia de candidiasis oral asociada al uso de prótesis dentales en pacientes de la Clínica Odontológica de la Universidad Anáhuac Norte. **Revista Asociación Dental Mexicana**, v. 74, n. 2, mar. 2017.

LOPES, A. C. P. *et al.* As Contribuições da Disciplina “Terapias Complementares Com Ênfase em Plantas Medicinais” na Prática Profissional dos Enfermeiros. **Revista de Pesquisa: Cuidado é Fundamental**, v. 10, n. 3, p. 619-625, set. 2018.

MACEDO, J. G. F. *et al.* Therapeutic indications, chemical composition and biological activity of native Brazilian species from *Psidium* genus (Myrtaceae): A review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 278, p. 114248, jun. 2021.

MEDEIROS, C. I. S. *et al.* Atividade anti-*Candida tropicalis* dos enantiômeros (R)-(+)-& (S)-(-)-citronelal em associação com nistatina. **Archives Of Health Investigation**, v. 7, n. 1, out. 2018.

MEIRA, H. C. **Avaliação *in-vitro* da atividade antifúngica e da citotoxicidade da própolis de copaíba contra espécies do gênero *Candida* spp.** 2017. Dissertação (Mestrado em Estomatologia), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

NUNES, M. A. F. **Análise da sensibilidade para diagnóstico molecular de candidíase.** 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biomedicina), Centro Universitário de Maringá, Maringá, 2017.

NCUBE, N. S.; AFOLAYAN, A. J.; OKOH, A. I. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. **African journal of biotechnology**, v. 7, n. 12, p. 1797-1806, jun. 2008.

OLIVEIRA, E. F. *et al.* Leaf morphology and venation of *Psidium* species from the Brazilian Savanna. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 4, p. 407-413, ago. 2017.

PEREIRA, C. T. *et al.* Avaliação da citotoxicidade *in vitro* do extrato hexânico de *Psidium guineense* swartz, **International Journal of Development Research**, v. 09, n. 09, p. 29887-29890, set. 2019.

PINA, P. S. S. **Caracterização clínico-patológica e aspectos diagnósticos da candidíase crônica hiperplásica**. 2018. Dissertação (Mestrado em Patologia Oral e Maxilofacial e Pacientes Especiais), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

QUEIROGA, G. M. T. **Plantas medicinais e fitoterápicos como alternativa terapêutica às infecções urinárias: um diagnóstico dessa realidade na saúde pública de Mossoró**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ambiente, Tecnologia e Sociedade), Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2015.

RAIMUNDO, J. D. S.; DE TOLEDO, C. E. M. Plantas com atividade antifúngica no tratamento da candidíase: uma revisão bibliográfica. **Revista Uningá Review**, 29, n. 2, mar. 2017.

REINHARDT, L. C. *et al.* Sensitivity to antifungals by *Candida* spp samples isolated from cases of chronic atrophic candidiasis (CAC). **Brazilian Journal of Biology**, v. 80, n. 2, p. 266-272, jun. 2019.

RODRIGUES, S. D. S. **Atividade antifúngica das espécies *Punica granatum* L. (romã) e *schinus terebinthifolius* (aroeira) no combate a candidíase oral: uma revisão de literatura**. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia), Faculdade Maria Milza. Governador Mangabeira, 2020.

RODRIGUES-SILVA, P. L. *et al.* Tendências quanto ao conhecimento e às aplicações biotecnológicas do *Psidium guineense* evidenciadas pelo monitoramento tecnológico. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 38, n. 1, p. 26704, abr. 2021.

SANTOS, S. B. *et al.* Presence of *Candida* spp. and candidiasis in liver transplant patients. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 93, n. 3, p. 356-361, jun. 2018.

SANTOS, M. G. C. *et al.* *Punica granatum* Linn. prevention of oral candidiasis in patients undergoing anticancer treatment. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 46, n. 1, p. 33-38, fev. 2017.

SIQUEIRA, J. S. *et al.* Candidíase oral em pacientes internados em UTI. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 71, n. 2, p. 176, dez. 2014.

SUDBERY, P.E. Growth of *Candida albicans* hyphae. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 10, p. 737-748, ago. 2011.

SURYANA, K.; SUHARSONO, H.; ANTARA, I. G. P. J. Factors Associated with Oral Candidiasis in People Living with HIV/AIDS: A Case Control Study. **HIV/AIDS – Research and Palliative Care**, v. 12, n. 12, p. 33-39, jan. 2020.

TALAPKO, J. *et al.* *Candida albicans* – The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 2, p. 79, jan. 2021.

TEODORO, P. D. S.; FERNANDES, H. V. D. S. O uso da terapia fotodinâmica como método alternativo de tratamento da candidíase oral. **Revista Arquivos Científicos (IMMES)**, v. 3, n. 1, p. 14-23, jun. 2020.

UGUÑA, K. B. C.; LEÓN, P. P.; CHACHA, A. F. Efecto antifúngico de diferentes concentraciones del extracto de *Uncaria tomentosa* sobre *Candida albicans*: Estudio in vitro. **Revista Odontología**, v. 19, n. 2, p. 30-39, out. 2018.

VANDEPUTTE, P.; FERRARI, S.; COSTE, A. T. Antifungal resistance and new strategies to control fungal infections. **International journal of microbiology**, v. 2012, p. 1-26, dez. 2011.

3 ARTIGO

Avaliação da atividade antifúngica do extrato metanólico de *Psidium guineense* (Myrtaceae) contra cepas do gênero *Candida*

Viton Dyrk Guimarães Fernandes e Abrahão Alves de Oliveira Filho

RESUMO

A candidíase é a infecção fúngica mais comum da cavidade oral, tendo como fator etiológico a proliferação e o crescimento de microrganismos do gênero *Candida*. Os fungos *Candida* compõem a diversificada microbiota da cavidade bucal vivendo em relação comensal inofensiva com o hospedeiro e podendo colonizar diferentes habitats como mucosas e pele. Diversos medicamentos antifúngicos vêm sendo utilizados para o tratamento da candidíase, tais como, antifúngicos azóis (cetoconazol, fluconazol) e antifúngicos poliênicos (nistatina, anfotericina B), no entanto, diversos desafios têm sido observados quanto à eficácia do tratamento medicamentoso. Com isso, o uso de plantas medicinais apresenta-se como uma alternativa viável e promissora para a descoberta de novos agentes fitofármacos de grande potencial biológico. Embasado em estudos da literatura que evidenciam as características físico-químicas e etnofarmacológicas das espécies de plantas medicinais, esta pesquisa objetivou avaliar a atividade antifúngica do extrato metanólico de *Psidium guineense* (Myrtaceae). O estudo se deu através da realização de ensaios *in vitro* onde foi utilizado como substância-teste o extrato metanólico de *Psidium guineense* frente as espécies fúngicas de *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei* previamente identificadas e mantidas em meios de cultura de ágar Sabouraud dextrose (ASD) e caldo Sabouraud dextrose (CSD). Ademais, para realização do controle positivo foi empregado a nistatina como antifúngico padrão. Realizou-se a técnica de microdiluição em caldo para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato metanólico de *Psidium guineense*, todas as análises e testes foram efetuados em duplicata. Diante disso, obteve-se como resultado o valor de CIM superior à 1024 µg/mL, indicando que o extrato metanólico de *Psidium guineense* não apresentou atividade antifúngica mediante a metodologia utilizada frente às cepas testadas.

Keywords: Fitoterapia, Farmacologia, Odontologia.

ISSN: 2593-8339

V. D. G. Fernandes*

Graduando de Odontologia, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, Brasil.

(e-mail: vitondyrk@gmail.com)

A. A. De Oliveira Filho

Professor, Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, Brasil.

(e-mail: abrahaofarm@gmail.com)

*Autor correspondente

I. INTRODUÇÃO

A candidose é uma afecção fúngica oportunista causada por microrganismos do gênero *Candida*, o qual apresenta cerca de 200 espécies distintas de leveduras, sendo os principais agentes de acometimento humano as espécies *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C.*

glabrata e *C. krusei*. O gênero *Candida* é composto por espécies cosmopolitas que colonizam a pele e as mucosas dos seres humanos, onde o seu principal sítio de colonização é o trato gastrointestinal, desde a boca até o reto, e que frequentemente podem ser isoladas da uretra e vagina [1].

Esses fungos incorporados a uma matriz de substâncias poliméricas compõem o biofilme, e essa associação favorece as trocas metabólicas e genéticas inter e intra-espécies. Com isso, os microrganismos na forma de biofilme são menos susceptíveis aos antimicrobianos que na forma planctônica. Outrossim, as leveduras do gênero *Candida* podem tornar-se patogênicas, apresentando capacidade de aderir, colonizar e formar tubos germinativos na mucosa do hospedeiro [2].

A transição das cepas de *Candida* de um estado comensal inofensivo para um estado patogênico depende fortemente de vários fatores predisponentes. Assim, muitas condições debilitantes estão envolvidas em várias formas clínicas da candidíase como, o crescente uso de agentes imunossupressores, discrasias sanguíneas, deficiências nutricionais e a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). Indivíduos imunossuprimidos possuem maior probabilidade de acometimento e a baixa imunidade mesmo após o tratamento, poderá apresentar recidivas da afecção fúngica [3].

Inúmeros fatores sistêmicos, locais e genéticos contribuem para as desordens na homeostase da cavidade oral. Conseqüentemente, ocorre indução a proliferação excessiva de *Candida* e a mudança na expressão de seus fatores de virulência e o estabelecimento da candidíase oral como micose oportunista. A espécie mais comum presente na microbiota oral normal e infectada é a *C. albicans*, representando cerca de 80% dos isolados de fungos orais. A candidíase oral, especificamente, tem várias manifestações clínicas compreendendo desde distúrbios mucocutâneos superficiais até uma infecção invasiva que afeta vários órgãos [4], [5].

Por ser reconhecida como a infecção oral mais comum em indivíduos altamente imunossuprimidos, a candidíase oral é amplamente associada a contagem de células T CD4⁺ e sua colonização serve de marcador para progressão da infecção e preditivo do aumento da imunossupressão. Na infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), a candidíase oral pode levar a complicações secundárias mais angustiantes como é o caso da candidíase esofágica, sendo considerada uma micose oportunista definidora da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), embora possa acometer pacientes imunocompetentes [6].

Diversos medicamentos sintéticos vêm sendo desenvolvidos para terapêutica da candidíase oral como os antissépticos à base de iodoquinol, derivados sulfamídicos, quinonas e antifúngicos poliênicos (nistatina e anfotericina B). Além desses, destacam-se ainda os antifúngicos azóis que são agentes do imidazol (cetoconazol e clotrimazol) e os agentes triazóis (fluconazol e itraconazol). Contudo, o tratamento das infecções fúngicas é de difícil eficácia devido à alta resistência das espécies de *Candida* a ação farmacológica dos antifúngicos convencionais e a subdosagem que frequentemente leva ao tratamento prolongado e altas taxas de recorrência da doença [7].

Com efeito, a utilização da Fitoterapia em suas variadas formas de apresentação como, chás, infusos, pomadas, géis e medicamentos fitoterápicos, se mostra uma alternativa viável aos profissionais de saúde para prevenção e tratamento de diversas patologias. Estudos

científicos que investigam as propriedades químicas e farmacológicas das plantas medicinais, permitem sua indicação como opção terapêutica de baixo custo, baixa toxicidade e mínimos efeitos colaterais, quando usado ou aplicado corretamente [8], [9].

Entre as diversas plantas de uso medicinal destaca-se a família Myrtaceae que compreende cerca 132 gêneros e 5671 espécies de árvores e arbustos, distribuídos em todos os domínios fitogeográficos brasileiros. Nesta família está presente o gênero *Psidium* e a espécie *Psidium guineense*, conhecida popularmente como araçá, no qual, estudos biológicos realizados com essa ferramenta vegetal já comprovaram o seu potencial farmacológico, tendo inclusive, resultados *in vitro* positivos para as atividades antimicobacterina, antioxidante, anti-inflamatória e antiproliferativo do óleo essencial das folhas de *Psidium guineense*. Além de, eficácia contra disfunções gastrointestinais (cólicas intestinais, diarreia, gastroenterite e gastrite) e doenças do trato urogenital [10].

Deste modo, esse trabalho analisou a possível atividade antifúngica do extrato metanólico de *Psidium guineense* frente às cepas do gênero *Candida*.

II. OBJETIVOS

A. Geral

Avaliar a atividade antifúngica do extrato metanólico de *Psidium guineense* (Myrtaceae)

B. Específicos

- Verificar a capacidade antifúngica do extrato metanólico de *Psidium guineense* sobre cepas de *Candida albicans*;
- Investigar a atividade inibitória do extrato metanólico de *Psidium guineense* para cepas de *Candida tropicalis*;
- Analisar o potencial antifúngico do extrato metanólico de *Psidium guineense* contra cepas de *Candida krusei*.
- Comparar o efeito antifúngico do extrato metanólico de *Psidium guineense* frente às diferentes cepas de fungos testadas

III. METODOLOGIA

A. Substância-teste

Para o ensaio foi utilizado o extrato metanólico das folhas de *Psidium guineense*, cedido pela equipe da Prof^ª. Dr^ª. Yanna Carolina Ferreira Teles, da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

O extrato foi conservado em frasco de vidro âmbar e mantido sob refrigeração. As emulsões do extrato nas diferentes concentrações foram preparadas no momento de execução do ensaio. Em um tubo de ensaio esterilizado, foi adicionado 60.000 µg do extrato, 0,15 mL de dimetilsulfóxido (DMSO), 0,06 mL de Tween 80 (INLAB/Indústria Brasileira) e quantidade suficiente para 3 mL de água destilada estéril. A mistura foi agitada por 5 minutos em aparelho Vortex (Fanem), obtendo uma

emulsão com concentração de 20.000 µg/mL do extrato, 5% de DMSO e 2% de Tween 80. E através de diluições em água destilada ou no próprio meio de cultura será obtida a concentração desejada do extrato. O projeto está seguindo as normas do CGEN- Conselho de Gestão do Patrimônio Genético, cadastrado na plataforma SISGEN sob o número de protocolo A81C329.

B. Espécies fúngicas

Foram utilizadas oito cepas de *Candida albicans* (ATCC 76645, LM 05, LM 09, LM 52, LM 80, LM 92, LM 108 e LM 240), cinco cepas de *Candida tropicalis* (ATCC 13803, LM 04, LM 11, LM 18 e LM 20) e três cepas de *Candida krusei* (ATCC 6258, LM 13 e LM 656), disponíveis no Laboratório de Microbiologia da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas (UACB)/CSTR/UFMG.

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 x 10⁶ UFC/mL padronizado de acordo com a turbidez do tubo 0,5 da escala de McFarland [11], [12].

C. Meios de cultura

Utilizou-se 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.

D. Fármaco antifúngico

Foi utilizado como antifúngico padrão (controle positivo), a nistatina em pó (Pharma Nostra, Rio de Janeiro). As soluções serão preparadas no momento de execução dos testes, para alcance das concentrações desejadas.

E. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A Concentração inibitória mínima do extrato de *Psidium guineense* será determinada pela técnica de microdiluição em caldo [11], [12]. Foram utilizadas placas de 96 orifícios estéreis e com tampa. Em cada orifício da placa, foi adicionado 100 µL do meio líquido caldo Sabouraud dextrose duplamente concentrado. Em seguida, 100 µL da emulsão 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, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8 e 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 x 10⁶ UFC/mL das espécies fúngicas

nas cavidades, onde cada coluna da placa refere-se a uma cepa fúngica, especificamente.

Paralelamente, realizou-se o mesmo ensaio com o antifúngico nistatina nas concentrações de 1024 µg/mL a 4 µg/mL. Um controle de micro-organismo foi realizado colocando-se nas cavidades 100 µL do mesmo CSD duplamente concentrado, 100 µL de água destilada estéril e 10 µL do inóculo de cada espécie. Para verificar a ausência de interferência nos resultados pelos solventes utilizados na preparação da emulsão, no caso o DMSO (dimetilsulfóxido) e o Tween 80, sendo feito um controle no qual foram colocados nas cavidades 100 µL do caldo duplamente concentrado, 50 µL de DMSO (5%), 50 µL de Tween 80 (2%) e 10µL da suspensão fúngica. Um controle de esterilidade do meio também foi realizado, sendo adicionado 200 µL do CSD em um orifício sem a suspensão dos fungos.

As placas foram assepticamente fechadas e incubadas a 35°C por 48 horas para ser realizada a leitura. A CIM do extrato antifúngico 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.

IV. RESULTADOS

A atividade antimicrobiana dos extratos vegetais é avaliada através da menor concentração da substância teste necessária para inibir o crescimento do microrganismo exposto, esse valor é conhecido como Concentração Inibitória Mínima (CIM). Nesse excerto, realizados os testes de microdiluição em caldo, observou-se que a CIM do extrato metanólico de *Psidium guineense* (araçá) contra as diferentes cepas de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* foi maior que 1024 µg/mL para todas as cepas testadas. Os resultados dos testes e os valores da CIM obtidos nesse estudo para a atividade antifúngica do extrato metanólico de *P. guineense* contra cepas do gênero *Candida*, encontram-se dispostos nas tabelas I, II e III.

V. DISCUSSÃO

Ao analisar os dados tabulados é possível verificar que todas as cepas das espécies fúngicas de *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei*, usadas para os experimentos, mostraram-se resistentes aos constituintes bioativos presente no extrato metanólico de *Psidium guineense* (araçá) não havendo inibição do crescimento fúngico nas concentrações testadas pela técnica no presente estudo.

Com efeito, de acordo com Sartoratto et al. [13] para que a atividade antimicrobiana de produtos de origem natural seja considerada forte, estes devem possuir a CIM de até 500 µg/mL, moderada para CIM de 600 a 1500 µg/mL e fraca para CIM acima de 1500 µg/mL. Diante disso, os resultados adquiridos nesse estudo pela técnica de microdiluição em caldo evidenciam que a atividade antifúngica do extrato metanólico do araçá (*Psidium guineense*) apresentou uma fraca inibição do crescimento

fúngico frente as cepas do gênero *Candida*, pois apresenta uma CIM maior que 1024 µg/mL para todas as cepas analisadas.

Nas tabelas também é possível observar que houve crescimento microbiano nos poços de controle negativo confirmando a viabilidade das cepas fúngicas utilizadas para os testes. Ademais, nos poços da placa referentes ao controle positivo foi possível verificar a inibição do crescimento demonstrando que as cepas testadas são sensíveis ao antifúngico controle utilizado, especificamente a nistatina.

Figueiredo et al. [14] verificou em seus estudos que a composição volátil da espécie vegetal *Psidium guineense* variou de 38 a 181 compostos, com predomínio de terpenos, principalmente, espatulenol (80,71%), limoneno (47,4%), α-pineno (35,6%) e cariofileno (8,6% – 24,4%). Com efeito, Nascimento et al. [10] demonstrou a eficácia do óleo essencial de *Psidium guineense* para os efeitos antioxidante, anti-inflamatório e antimicrobiano (CIM = 126,4 µg/mL) sugerindo que tais efeitos biológicos dessa

família são oriundos da alta predominância do constituinte espatulenol, correspondendo a mais de 80% de sua composição.

Apesar do efeito antifúngico negativo frente as cepas do gênero *Candida* mostrado nesse estudo. Macedo et al. [15] analisaram a atividade antimicrobiana da espécie *Psidium guineense* contra *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*, que são patógenos para humanos e resistentes a antibióticos, sendo demonstrado que os extratos aquoso e de acetato de etila apresentaram um forte efeito contra cepas de *S. aureus* (CIM = 250 – 500 µg/mL) e *K. pneumoniae* (CIM = 64 µg/mL) respectivamente. Ademais a associação do extrato com a cefalotina apresentou um menor Índice de Concentração Inibitória Fracionada (FICI) com variação de 0,125 a 0,5 µg/mL, evidenciando que o produto natural potencializou o efeito da droga sintética.

TABELA I: Concentração Inibitória Mínima (CIM) em µg/mL do extrato de *Psidium guineense* contra cepas de *C. albicans*.

	ATCC 76645	LM 05	LM 09	LM 52	LM 80	LM 92	LM 108	LM 240
1024 µg/mL	-	-	-	-	-	-	-	-
512 µg/mL	-	-	-	-	-	-	-	-
256 µg/mL	-	-	-	-	-	-	-	-
128 µg/mL	-	-	-	-	-	-	-	-
64 µg/mL	-	-	-	-	-	-	-	-
32 µg/mL	-	-	-	-	-	-	-	-
Controle negativo	-	-	-	-	-	-	-	-
Controle positivo	+	+	+	+	+	+	+	+

(+) Inibiu o crescimento bacteriano (-) Não inibiu o crescimento bacteriano

Fonte: Autores

TABELA II: Concentração Inibitória Mínima (CIM) em µg/mL do extrato de *Psidium guineense* contra cepas de *C. tropicalis*.

	ATCC 13803	LM 04	LM 11	LM 18	LM 20
1024 µg/mL	-	-	-	-	-
512 µg/mL	-	-	-	-	-
256 µg/mL	-	-	-	-	-
128 µg/mL	-	-	-	-	-
64 µg/mL	-	-	-	-	-
32 µg/mL	-	-	-	-	-
Controle negativo	-	-	-	-	-

Controle positivo	+	+	+	+	+
--------------------------	---	---	---	---	---

(+) Inibiu o crescimento bacteriano (-) Não inibiu o crescimento bacteriano

Fonte: Autores

TABELA III: Concentração Inibitória Mínima (CIM) em µg/mL do extrato de *Psidium guineense* contra cepas de *C. krusei*.

	ATCC	LM	LM
	6258	13	656
1024 µg/mL	-	-	-
512 µg/mL	-	-	-
256 µg/mL	-	-	-
128 µg/mL	-	-	-
64 µg/mL	-	-	-
32 µg/mL	-	-	-
Controle negativo	-	-	-
Controle positivo	+	+	+

(+) Inibiu o crescimento bacteriano (-) Não inibiu o crescimento bacteriano

Fonte: Autores

VI. CONCLUSÃO

Conclui-se que o extrato metanólico da espécie vegetal *Psidium guineense* não apresentou atividade antifúngica mediante a técnica utilizada frente as cepas de *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Candida tropicalis* testadas. Com isso, faz-se necessário novos estudos abordando diferentes metodologias para determinação da CIM e do efeito antimicótico do extrato para posterior análise comparativa dos resultados encontrados nesse estudo, com o intuito de fornecer um levantamento etnofarmacológico do produto natural estudado.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não ter qualquer conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

[1] Nunes MA. Análise da sensibilidade para diagnóstico molecular de candidíase. Trabalho de Conclusão de Curso. Centro Universitário de Maringá; 2017.
from cases of chronic atrophic candidiasis (CAC). **Braz. J. Biol.** Jun. 2019; 80(2): 266-272.
[10] Do Nascimento KF, Moreira FM, Santos JA, Kassuya CA, Croda JH, Cardoso CA, *et al.* Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol. **J. ethnopharmacol.** Out. 2018; 210: 351-358.
[11] Cleeland R, Squires E. Evaluation of new antimicrobials *in vitro* and in experimental animal infections. **Antibiotics in Laboratory Medicine**, v. 14, n. 2, p. 739-788, mai. 1991.

[2] Coradi CT, Francisconi RS, Huacho PM, Correia MF, Bordini EA, Sardi JC, *et al.* Atividade antifúngica do a-terpinen sobre *Candida albicans*. **Ver. Estomatol. Hered.** Jun. 2019; 29(2): 107-114.
[3] Raimundo JD, De Toledo CE. Plantas com atividade antifúngica no tratamento da candidíase: uma revisão bibliográfica. **Rev. Uningá.** Mar. 2017; 29(2).
[4] Freire JC, Nóbrega MT, Oliveira Júnior JK, Freire SC, Dias-Ribeiro E. Atividade antifúngica de fitoterápicos sobre candidose oral: uma revisão de literatura. **Rev. Salusvita.** Dez. 2016; 35(4): 537-546.
[5] Talapko J, Juzbašić M, Matijević T, Pustijanac E, Bekić S, Kotrić I, *et al.* *Candida albicans* – The virulence factors and clinical manifestations of infection. **J. Fungi.** Jan. 2021; 7(2): 79.
[6] Da Câmara Melo MC. Infecções orais oportunistas e neoplasias em pacientes portadores de HIV. Tese de Mestrado. Universidade do Porto; 2020.
[7] Ferreira JL, Siqueira DS, Delgado LA, Cavalcante JN, Silva RC, Filgueira RC, *et al.* Comparação da atividade antifúngica dos extratos etanólico e aquoso de *Rhaphiodon echinus* (Lamiaceae) contra cepas de *Candida albicans*. **Rev. Uningá.** Set. 2019; 56(3): 1-8.
[8] Uguña KB, León PP, Chacha AF. Efecto antifúngico de diferentes concentraciones del extracto de *Uncaria tomentosa* sobre *Candida albicans*: Estudio in vitro. **Ver. Fac. Odontol. Univ. Cent. Ecuad.** Out. 2018; 19(2): 30-39.
[9] Reinhardt LC, Nascente OS, Ribeiro JS, Guimarães VB, Etges A, Lund RG. Sensitivity to antifungals by *Candida* spp samples isolated
[12] Hadacek F, Greger H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. **Phytochemical Analyses**, v.11, p. 137-147, jun. 2000.
[13] Sartoratto A, Machado AL, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MC, Rehder VL. Composição e atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas aromáticas utilizadas no Brasil. **Braz. J. Microbiol.** Dez. 2004; 35: p. 275-280.
[14] Figueiredo PL, Silva RC, Da Silva JK, Suemitsu C, Mourão RH, Maia JG. Chemical variability in the essential oil of leaves of araçá

(*Psidium guineense* Sw.), with occurrence in the Amazon. **Chem. Cent. J. Mai**; 2018; 12(1): 52.
[15] Macedo JG, Rangel JM, De Oliveira M, Camilo CJ, Da Costa JG, Souza MM. Therapeutic indications, chemical composition and biological activity of native brazilian species from *Psidium* genus (Myrtaceae): A review. **J. Ethnopharmacol.** Jun. 2021; 278: 114-248.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que o extrato metanólico da espécie vegetal *Psidium guineense* não apresentou atividade antifúngica, mediante a técnica utilizada, frente as cepas de *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Candida tropicalis* testadas, apresentando uma Concentração Inibitória Mínima (CIM) superior a $1024 \mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$. Com isso, faz-se necessário novos estudos abordando diferentes metodologias para determinação da CIM e do efeito antimicótico do extrato para posterior análise comparativa dos resultados encontrados nesse estudo, com o intuito de fornecer um levantamento etnofarmacológico do produto natural estudado.

ANEXO A – NORMAS DE SUBMISSÃO DA REVISTA

European Journal of Medical and Health Sciences (EJMED) é uma revista internacional revisada por pares publicada pela **European Open Science** bimestralmente. A revista publica:

- Artigos de pesquisa completos de última geração
- Comentários
- Estudos de caso
- Comunicações curtas

relacionadas com todas **as áreas das Ciências Médicas e da Saúde.**

Todos os artigos enviados:

- deve ser original
- devem ser resultados **de pesquisas inéditas**
- deve ser experimental ou teórico
- e será revisado **por pares**
- não pode ser considerado **para publicação em outro lugar a qualquer momento durante o período de revisão**

A EJMED está aceitando manuscritos para publicação em inglês. A revista considera artigos que não foram publicados anteriormente nem submetidos simultaneamente em outro lugar em qualquer idioma. O formulário de direitos autorais será fornecido pelo editor para os artigos aceitos.

A relevância científica cada vez maior dos artigos publicados e a melhoria da qualidade dos exemplares impressos é o principal objetivo de nossa política editorial.

Tolerância zero para plágio

Esta revista tem uma política de “Tolerância Zero ao Plágio”. Verificamos o problema de plágio por meio de dois métodos: **verificação do revisor e ferramenta de prevenção de plágio** (iThenticate.com). Todos os envios serão verificados pelo software de prevenção de plágio antes de serem enviados aos revisores.

Foco e Escopo

European Journal of Medical and Health Sciences (EJMED) é um jornal on-line de alta qualidade, acesso aberto, internacional, revisado por pares, que visa publicar mensalmente artigos de pesquisa originais completos, revisões e estudos de caso relacionados a todas as áreas das Ciências Médicas e da **Saúde** como:

- Anestesia
- Anatomia
- Bioquímica
- Pesquisa de câncer/oncologia
- Cardiologia
- Medicina Comunitária
- Odontologia
- Dermatologia e Doenças Venéreas
- Diabetes

- Endocrinologia
- Medicina forense
- Gastroenterologia
- Cirurgia geral
- Genética
- Geriatria/Envelhecimento
- Hematologia
- Doenças infecciosas
- Medicina Interna
- Educação médica
- Microbiologia
- Neurologia/Neurocirurgia
- Nefrologia
- Obstetrícia & ginecologia
- Oftalmologia
- Ortopedia
- Otorrinolaringologia
- Farmacologia
- Patologia
- Fisiologia
- Pediatria
- Medicina Pulmonar
- Psiquiatria
- Radiologia
- Reumatologia
- Cirurgia
- Urologia

Processo de Revisão por Pares

O processo de revisão é considerado crítico para estabelecer um corpo confiável de pesquisa e conhecimento. O processo de revisão visa fazer com que os autores atendam aos padrões de sua disciplina e da ciência em geral.

Usamos um sistema duplo-cego para revisão por pares; as identidades dos revisores e dos autores permanecem anônimas entre si. O artigo será revisado por dois ou três especialistas; um é da equipe editorial e os outros dois são revisores externos.

O editor passará os manuscritos aceitos para publicação a uma editora que será responsável pela organização dos serviços editoriais e impressão online da publicação.

Lista de verificação de preparação de envio

Como parte do processo de submissão, os autores devem verificar a conformidade de sua submissão com todos os itens a seguir, e as submissões podem ser devolvidas aos autores que não aderirem a essas diretrizes.

- A submissão não foi publicada anteriormente, nem está antes de outro periódico para consideração (ou uma explicação foi fornecida em Comentários ao Editor).

- O arquivo de submissão está em formato de arquivo de documento OpenOffice, Microsoft Word, RTF ou WordPerfect conforme modelo de manuscrito com comprimento máximo de 10 páginas.
- Se este artigo for aceito para publicação, você será solicitado a pagar uma taxa de publicação de artigo (69 libras esterlinas) para cobrir os custos de publicação.
- Quando disponíveis, foram fornecidos URLs para as referências. O texto está em espaçamento simples; usa uma fonte de 10 pontos; emprega itálico, em vez de sublinhado (exceto com endereços URL); e todas as ilustrações, figuras e tabelas são colocadas no texto nos pontos apropriados, e não no final.
- O texto segue os requisitos estilísticos e bibliográficos descritos nas Diretrizes para Autores, que se encontram em Sobre a Revista.
- Ao enviar para uma seção de revisão por pares da revista, as instruções em Garantindo uma revisão cega foram seguidas.

Diretrizes do autor

EJMED é um periódico internacional revisado por pares que publica artigos em todos os campos das ciências médicas e da saúde. A Revista publica artigos que relatam contribuições originais ao conhecimento científico. Ao submeter o manuscrito, o(s) Autor(es) deverá(ão) indicar claramente sua área de especialização. Artigos de pesquisa em um idioma diferente do inglês NÃO são aceitos.

O(s) autor(es) deve(m) enviar apenas artigos que foram cuidadosamente revisados e polidos. Antes da submissão, certifique-se de que seu artigo foi preparado usando o modelo de artigo EJMED. Isso garantirá processamento e publicação rápidos. A notificação de aceitação ou rejeição será enviada a todos os autores.

Modelo de papel:

O artigo deve descrever claramente resultados novos e cuidadosamente confirmados e procedimentos experimentais que devem ser fornecidos em detalhes necessários para que outros possam verificar o trabalho. O papel pode ter até 10 páginas excluindo referências e resumo. Para referência adequada e publicação rápida, todos os manuscritos devem estar gramaticalmente corretos.

Modelo de manuscrito:

Estas instruções fornecem diretrizes para a preparação de artigos para esta revista.

- A configuração do papel deve estar no tamanho A4 com margem: superior 1,78 cm, inferior 1,78 cm, esquerda 1,65 cm, direita 1,65 cm, medianiz 0 cm e posição do medianiz superior.
- O artigo deve estar em uma coluna após o nome do autor. Todo o trabalho deve estar com: Nome da Fonte Times New Roman, Tamanho da Fonte 10, Espaçamento entre Linhas 1,05, recuo 0,36 cm na primeira linha, EXCETO Resumo, Palavras-chave, Título do Trabalho, Referências, Perfil do Autor (na última página do trabalho, máximo 400 palavras)

- Todos os Títulos e Detalhes do Manuscrito (Primeira Página, lado direito).
- O título do trabalho deve estar em tamanho de fonte 20 com espaçamento entre linhas simples.
- O Nome dos Autores deve estar em Fonte Tamanho 11, Antes Espaçamento 0, Após Espaçamento 16, com Espaçamento Simples. Por favor, não escreva o e-mail ou o endereço do autor no lugar do nome do autor. e-mail dos autores, e seus detalhes de endereço devem estar nos detalhes do manuscrito.
- Resumo e palavras-chave devem estar em tamanho de fonte 9, negrito com espaçamento simples.
- Todos os títulos principais devem estar em letras maiúsculas, centralizado e numeração romana (I, II, III...etc.), antes espaçamento 12, após espaçamento 6, com espaçamento entre linhas simples.
- Todos os subtítulos devem estar em letras maiúsculas e minúsculas, 0,25 cm à esquerda, itálico e numeração alfabética (A, B, C... etc.), antes do espaçamento 6, depois do espaçamento 3, com espaçamento entre linhas simples.
- Os detalhes do manuscrito devem estar em tamanho de fonte 8, primeira página e lado direito com espaçamento simples.
- As referências devem estar em tamanho de fonte 8, com espaçamento simples entre linhas.
- O Perfil do Autor deve estar em fonte tamanho 8, com espaçamento simples entre linhas. As legendas das tabelas e figuras devem estar em fonte tamanho 8.
- Use o estilo de referência Vancouver. As referências devem ser numeradas consecutivamente na ordem em que são mencionadas pela primeira vez. Coloque cada número de referência entre colchetes [1] ao longo do texto, tabelas e legendas. Se a mesma referência for usada novamente, reutilize o número original. A pontuação da frase segue os colchetes [2]. Referências múltiplas [2], [3] são numeradas com colchetes separados.

Declaração de privacidade

Os nomes e endereços de e-mail inseridos neste site da revista serão usados exclusivamente para os propósitos declarados desta revista e não serão disponibilizados para qualquer outra finalidade ou para qualquer outra parte. A administração da revista fornece atualizações e notícias aos autores, revisores e editores por e-mail.

A EJMED se dedica a seguir as melhores práticas em questões éticas, erros e retratações. A prevenção de más práticas de publicação é uma das importantes responsabilidades do conselho editorial. Qualquer tipo de comportamento antiético não é aceitável, e a EJMED não tolera plágio de qualquer forma. Os autores que submetem artigos à EJMED afirmam que o conteúdo do manuscrito é original. Além disso, eles garantem que seu artigo não foi publicado em outro lugar nem está em revisão para publicação em qualquer lugar.

ANEXO B – TEMPLATE DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA EJMED

Preparação de artigos para o Revista Europeia de Ciências Médicas e da Saúde (EJMED)

Primeiro A. Autor, Segundo B. Autor e Terceiro C. Autor

RESUMO

(Leia atentamente o resumo do modelo). Estas instruções dão-lhe orientações para a preparação de artigos para esta revista. A configuração do papel deve ser em tamanho A4 com Margem: Superior 1,78 cm, Inferior 1,78 cm, Esquerda 1,65 cm, Direita 1,65 cm, Calha 0 cm e Posição da Calha Superior. O papel deve ser apresentado numa coluna a seguir ao nome do autor. Todo o artigo deve ser escrito com: Nome da fonte Times New Roman, Tamanho da fonte 10, Espaçamento entre linhas 1,05, recuo 0,36 cm na primeira linha, EXCEPTO Resumo, Palavras-chave, Título do artigo, Referências, Perfil do autor (na última página do artigo, máximo de 400 palavras), Todos os títulos e Detalhes do manuscrito (Primeira página, lado direito). O título do artigo deve ser apresentado em letra de tamanho 20 e espaçamento simples entre linhas. O nome do autor deve estar em tamanho de letra 11, espaçamento 0 antes e 16 depois, com espaçamento simples entre linhas. Não escrever o e-mail do autor ou o endereço do autor no lugar do nome do autor. O e-mail do autor e os detalhes do seu endereço devem constar dos detalhes do manuscrito. O resumo e as palavras-chave devem estar em tamanho de letra 9, negrito, com espaçamento de uma linha. Todos os títulos principais devem estar em maiúsculas, ao centro e em numeração romana (I, II, III... etc.), com espaçamento 12 antes e 6 depois, com espaçamento simples entre linhas. Todos os subtítulos devem estar em maiúsculas, à esquerda 0,25 cm, itálico e numeração alfabética (A, B, C... etc.), antes do espaçamento 6, depois do espaçamento 3, com espaçamento simples entre linhas. Os detalhes do manuscrito devem estar em tamanho de fonte 8, na primeira página e no lado direito, com espaçamento simples entre linhas. As referências devem estar em tamanho de fonte 8, com espaço 0,63 e espaçamento simples entre linhas. O perfil do autor deve estar em tamanho de fonte 8, com espaçamento simples entre linhas. A legenda das tabelas e figuras deve ser em tamanho de letra 8. O texto das tabelas deve estar em tamanho de fonte 8, com espaçamento entre linhas 1,1.

Palavras-chave: Cerca de quatro palavras-chave ou frases em ordem alfabética, separadas por vírgulas.

Submissão: Outubro 1, 2021

Publicação: Outubro 30, 2021

ISSN: 2593-8339

DOI: 10.24018/ejmed.ANO.Vol.Issue.ID

P. A. Autor*

Instituto Nacional de Normas e Tecnologia, Boulder, CO, EUA.
(e-mail: autor boulder.nist.gov)

S. B. Author

Rice University, Houston, TX, USA.
(e-mail: autor@ lamar. colostate.edu)
Rice University, Houston, TX, EUA.
(e-mail: author lamar. colostate.edu)

T. C. Author

Departamento de Engenharia Eléctrica,
Universidade do Colorado, Boulder, CO
EUA

(e-mail: autor@ nrim.go.jp)

*Autor Correspondente.

I. INTRODUÇÃO

Realce uma secção que pretenda designar com um determinado estilo e, em seguida, seleccione o nome adequado no menu de estilos. O estilo irá ajustar os tipos de letra e o espaçamento entre linhas. Não altere o tamanho dos tipos de letra ou o espaçamento entre linhas para colocar mais texto num número limitado de páginas. Utilize itálico para dar ênfase; não sublinhe.

Para inserir imagens no Word, posicione o cursor no ponto de inserção e use Inserir | Imagem | Do ficheiro ou copie a imagem para a área de transferência do Windows e depois Editar | Colar Especial | Imagem (com "Flutuar sobre o texto" desmarcado).

A revista reserva-se o direito de efectuar a formatação final do seu artigo

II. PROCEDIMENTO PARA A SUBMISSÃO

A. Fase de Revisão

Envie o seu manuscrito electronicamente para revisão.

B. Fase Final

Quando apresentar a sua versão final, depois de o seu trabalho ter sido aceite, prepare-o em formato de duas colunas, incluindo figuras e tabelas.

C. Figuras

Como já foi dito, para inserir imagens no Word, posicione o cursor no ponto de inserção e utilize Inserir | Imagem | Do ficheiro ou copie a imagem para a área de transferência do Windows e, em seguida, Editar | Colar especial | Imagem (com "Flutuar sobre o texto")

desmarcado).

Os autores dos manuscritos aceites receberão um formulário de direitos de autor, que deverá acompanhar a sua apresentação final.

III. MATEMÁTICA

Se estiver utilizando o *Word*, utilize o Microsoft Equation Editor ou o suplemento *MathType* (<http://www.mathtype.com>) para equações no seu artigo (Inserir | Objecto | Criar novo | Microsoft Equation ou MathType Equation). A opção "Flutuar sobre o texto" *não* deve ser seleccionada.

IV. UNIDADES

Utilizar o SI (MKS) ou o CGS como unidades primárias. (As unidades inglesas podem ser utilizadas como unidades secundárias (entre parêntesis). Isto aplica-se a trabalhos em armazenamento de dados. Por exemplo, escreva "15 Gb/cm² (100 Gb/in²)". Uma excepção é quando as unidades inglesas são usadas como identificadores no comércio, como "3½ in disk drive". Evitar combinar unidades SI e CGS, tais como corrente em amperes e campo magnético em oersteds. Isto leva frequentemente a confusão porque as equações não se equilibram dimensionalmente. Se tiver de utilizar unidades mistas, indique claramente as unidades de cada quantidade numa equação.

A unidade SI para a intensidade do campo magnético H é A/m. No entanto, se pretender utilizar unidades de T, refira a densidade do fluxo magnético B ou a intensidade do campo magnético simbolizada como μOH . Utilize o ponto central para separar unidades compostas, por exemplo, "A-m²". Helpful Hints

A. Figuras e Tabelas

Uma vez que a formatação final do seu documento é limitada em termos de escala, é necessário posicionar as figuras e tabelas no topo e no fundo de cada coluna. As figuras e tabelas de grandes dimensões podem abranger ambas as colunas. Coloque as legendas das figuras por baixo das figuras; coloque os títulos das tabelas por cima das tabelas. Se a sua figura tiver duas partes, inclua as etiquetas "(a)" e "(b)" como parte do trabalho artístico. Verifique se as figuras e tabelas que menciona no texto existem efectivamente. Não coloque margens no exterior das suas figuras. Utilize a abreviatura "Fig." mesmo no início de uma frase. As figuras são numeradas com algarismos árabes. Não abrevie "Tabela". As tabelas são numeradas com algarismos romanos.

Inclua uma nota com o seu trabalho final indicando que solicita a impressão a cores. Não utilize cores a não ser que sejam necessárias para a correcta interpretação das suas figuras.

As etiquetas dos eixos das figuras são muitas vezes uma fonte de confusão. Utilize palavras em vez de símbolos. Por exemplo, escreva a quantidade "Magnetização", ou "Magnetização M", e não apenas "M". Coloque as

unidades entre parênteses. Não rotule os eixos apenas com unidades. Como na Fig. 1, por exemplo, escreva "Magnetização (A/m)" ou "Magnetização (A m⁻¹)", e não apenas "A/m". Não escreva os eixos com uma relação de quantidades e unidades. Por exemplo, escreva "Temperatura (K)" e não "Temperatura/K".

Os multiplicadores podem ser especialmente confusos. Escreva "Magnetização (kA/m)" ou "Magnetização (103 A/m)." Não escreva "Magnetização (A/m) × 1000" porque o leitor não saberia se a etiqueta do eixo superior na Fig. 1 significa 16000 A/m ou 0,016 A/m. As etiquetas das figuras devem ser legíveis, com um tipo de letra de aproximadamente 8 a 12 pontos. O formato dos números decimais deve ser o mesmo para os eixos (por exemplo, 1.0, 1.2, e não 1, 1.2). Inserir gráficos editáveis. Não insira tabelas como imagens. O texto das tabelas não deve ser envolvido. As figuras devem ser inseridas em linha com o texto. As figuras devem ser de alta qualidade. O texto nas figuras deve ser distinto e não desfocado.

TABELA I: DISPOSIÇÃO DOS CANAIS

Canais	Grupo 1	Grupo 2	...	Grupo c
Canal principal	Canal 1	Canal 2	...	Canal c
Canal assistente	Canal 2	Canal 3	...	Canal 1

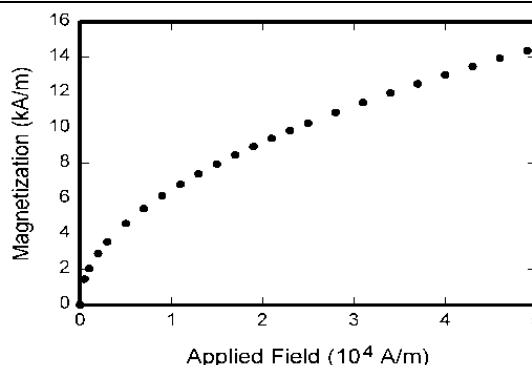


Fig. 1. Magnetização em função do campo aplicado.

B. Referências

Utilize o estilo de referência de Vancouver. As referências devem ser numeradas consecutivamente na ordem em que são mencionadas pela primeira vez. Colocar cada número de referência entre parêntesis rectos [1] em todo o texto, tabelas e legendas. Se a mesma referência for usada novamente, reutilize o número original. A pontuação da frase segue os parêntesis [2]. As referências múltiplas [2], [3] são numeradas com parêntesis separados [1]-[3]. Quando citar uma secção de um livro, indique os números das páginas correspondentes [2]. Nas frases, referir simplesmente o número de referência, como em [3]. Não use "Ref. [3]" ou "referência [3]" excepto no início de uma frase: "A referência [3] mostra ...". Quando os nomes dos autores são usados na citação de texto, siga as seguintes regras: até 3 autores - nomeie 3 autores e depois coloque a referência, por exemplo, "Smith, Jones e McDonald [1] relataram que..."; mais de 3 autores - por exemplo, "Smith et al. [1] relata...". Numerar as notas de rodapé separadamente em sobrescritos (Inserir | Nota de rodapé). Colocar a nota de rodapé na parte inferior da coluna em

que é citada; não colocar as notas de rodapé na lista de referências (notas finais). Utilizar letras para notas de rodapé de tabelas.

Tenha em atenção que as referências no final deste documento estão no estilo de referência preferido. Indique os nomes de todos os autores; não utilize "*et al.*", excepto se houver seis ou mais autores. Utilize um espaço após as iniciais dos autores. Os trabalhos que não tenham sido publicados devem ser citados como "não publicados". Os trabalhos que foram submetidos para publicação devem ser citados como "submitted for publication". Os trabalhos aceites para publicação, mas ainda não especificados para um número, devem ser citados como "a publicar". Por favor, indique as afiliações e endereços para comunicações privadas.

Apenas a primeira palavra do título do artigo deve ser escrita em maiúsculas, excepto no caso de nomes próprios e símbolos de elementos. No caso de artigos publicados em revistas de tradução, indicar primeiro a citação em inglês, seguida da citação original em língua estrangeira.

C. Abreviaturas e Acrónimos

Definir as abreviaturas e acrónimos na primeira vez que forem utilizados no texto, mesmo depois de já terem sido definidos no resumo. Abreviaturas como SI, ac, e dc não precisam de ser definidas. Abreviaturas que incorporam pontos não devem ter espaços: escreva "C.N.R.S.", e não "C. N. R. S.". Não utilize abreviaturas no título, excepto se forem inevitáveis (por exemplo, "title" no título deste artigo).

D. Equações

Numere as equações consecutivamente, com os números das equações entre parênteses, alinhados com a margem direita, como em (1). Primeiro, utilize o editor de equações para criar a equação. Em seguida, seleccione o estilo de marcação "Equação". Prima a tecla tab e escreva o número da equação entre parênteses. Para tornar as suas equações mais compactas, pode utilizar o sólido (/), a função exp ou expoentes apropriados. Utilize parênteses para evitar ambiguidades nos denominadores.

$$\int_0^{r_2} F(r, \phi) dr d\phi = [\sigma r_2 / (2\mu_0)] \cdot \int_0^\infty \exp(-\lambda / z_j - z_i / \lambda) \lambda^{-1} J_1(\lambda r_2) J_0(\lambda r_1) d\lambda. \quad (1)$$

Certifique-se de que os símbolos da sua equação foram definidos antes de a equação aparecer ou imediatamente a seguir. O tamanho dos símbolos nas equações deve ser de tamanho de letra 10. Coloque os símbolos em itálico (T pode referir-se à temperatura, mas T é a unidade tesla). Referir-se a "(1)" e não a "Eq. (1)" ou "equação (1)", excepto no início de uma frase: "A equação (1) é ...".

E. Outras Recomendações

Utilize um espaço a seguir aos pontos e aos dois pontos. Hifenizar modificadores complexos: "magnetização arrefecida a campo zero". Evite participios pendentes, tais

como: "Usando (1), o potencial foi calculado." [Escreva, em vez disso, "O potencial foi calculado usando (1)" ou "Usando (1), calculámos o potencial".

Utilizar um zero antes das casas decimais: "0,25", e não ",25". Utilizar "cm³" e não "cc". Indique as dimensões da amostra como "0,1 cm · 0,2 cm," e não "0,1 · 0,2 cm²." Utilize um espaço entre o número e a unidade: 0,1 cm, e não 0,1cm. A abreviatura de "segundos" é "s" e não "sec". Não misture grafias completas e abreviaturas de unidades: use "Wb/m²" ou "webers por metro quadrado", e não "webers/m²". Quando expressar um intervalo de valores, escreva "7 a 9" ou "7-9", e não "7~9".

Uma declaração parentética no final de uma frase é pontuada fora do parêntesis de fecho (assim). (Uma frase parentética é pontuada dentro dos parênteses.) No inglês americano, os pontos e as vírgulas estão entre aspas, como "this period". A restante pontuação está "fora"! Evite contracções; por exemplo, escreva "do not" em vez de "don't". A vírgula em série é preferível: "A, B e C" em vez de "A, B e C".

Se desejar, pode escrever na primeira pessoa do singular ou do plural e utilizar a voz activa ("Eu observei que..." ou "Nós observámos que..." em vez de "Observou-se que..."). Não se esqueça de verificar a ortografia. Se a sua língua materna não for o inglês, peça a um colega de língua materna inglesa para rever o seu trabalho.

V. ALGUNS ERROS COMUNS

A palavra "dados" está no plural, não no singular. O subscrito para a permeabilidade do vácuo μ_0 é zero, e não uma letra minúscula "o". O termo para magnetização residual é "remanência"; o adjectivo é "remanescente"; não se escreve "remanescente" ou "remanescente". Utilize a palavra "micrómetro" em vez de "micron". Um gráfico dentro de um gráfico é um "inset", não um "insert". A palavra "alternativamente" é preferível à palavra "alternadamente" (a não ser que queira realmente dizer algo que alterna). Utilize a palavra "whereas" em vez de "while" (a menos que esteja a referir-se a eventos simultâneos). Não utilize a palavra "essencialmente" para significar "aproximadamente" ou "efectivamente". Não utilizar a palavra "questão" como eufemismo para "problema". Quando as composições não são especificadas, separe os símbolos químicos por traços; por exemplo, "NiMn" indica o composto intermetálico Ni_{0.5}Mn_{0.5}, enquanto "Ni-Mn" indica uma liga de composição Ni_xMn_{1-x}.

Tenha em atenção os diferentes significados dos homófonos "afectar" (geralmente um verbo) e "efeito" (geralmente um substantivo), "complemento" e "elogio", "discreto" e "discreto", "principal" (por exemplo, "investigador principal") e "princípio" (por exemplo, "princípio de medição"). Não confundir "implicar" e "inferir".

Prefixos como "non", "sub", "micro", "multi" e "ultra" não são palavras independentes; devem ser unidos às palavras que modificam, geralmente sem hífen. Não há

ponto final após o "et" na abreviatura latina "et al." (também está em itálico). A abreviatura "i.e." significa "isto é", e a abreviatura "e.g." significa "por exemplo" (estas abreviaturas não estão em itálico).

Um excelente manual de estilo e fonte de informação para escritores científicos é [9].

VI. POLÍTICA EDITORIAL

O autor que submete o artigo é responsável por obter o acordo de todos os co-autores e qualquer consentimento necessário dos patrocinadores antes de submeter um artigo. É obrigação dos autores citar trabalhos anteriores relevantes. Os autores de artigos rejeitados podem rever e voltar a submetê-los à revista.

VII. PRINCÍPIOS DE PUBLICAÇÃO

O conteúdo da revista é revisto por pares e arquivado. A revista publica artigos académicos de valor arquivístico, bem como exposições tutoriais e resenhas críticas de temas clássicos e tópicos de interesse actual.

Os autores devem ter em conta os seguintes pontos:

1) Os artigos técnicos submetidos para publicação devem avançar o estado do conhecimento e devem citar trabalhos anteriores relevantes.

2) A extensão de um artigo submetido deve ser proporcional à importância, ou apropriada à complexidade, do trabalho. Por exemplo, uma extensão óbvia de um trabalho publicado anteriormente pode não ser apropriada para publicação ou pode ser tratada adequadamente em apenas algumas páginas.

3) Os autores devem convencer os revisores e os editores do mérito científico e técnico de um artigo; os padrões de prova são mais elevados quando são comunicados resultados extraordinários ou inesperados.

4) Como a replicação é necessária para o progresso científico, os artigos submetidos para publicação devem fornecer informações suficientes para permitir que os leitores realizem experiências ou cálculos semelhantes e utilizem os resultados relatados. Embora nem tudo precise de ser divulgado, um artigo deve conter informação nova, utilizável e completamente descrita. Por exemplo, a composição química de uma amostra não precisa de ser comunicada se o principal objectivo de um artigo for introduzir uma nova técnica de medição. Os autores devem esperar ser questionados pelos revisores se os resultados não forem apoiados por dados adequados e pormenores críticos.

VIII. CONCLUSÃO

Não é necessária uma secção de conclusão. Embora a conclusão possa rever os pontos principais do artigo, não se deve reproduzir o resumo como conclusão. A conclusão pode desenvolver a importância do trabalho ou sugerir aplicações e extensões.

APÊNDICE

Os apêndices, se necessários, aparecem antes do agradecimento.

AGRADECIMENTO

The A grafia preferida da palavra "acknowledgment" em inglês americano é sem um "e" depois do "g". Utilizar o título no singular, mesmo que haja muitos agradecimentos. Evite expressões como "Um de nós (S.B.A.) gostaria de agradecer" Em vez disso, escreva "F. A. O autor agradece ..."

FINANCIAMENTO

Os agradecimentos ao patrocinador e ao apoio financeiro podem ser colocados nesta secção.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não ter qualquer conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

(Artigo de jornal, até 6 autores)

[1] Johnston KJ, Hammond G, Meyers DJ, Joynt Maddox KE. Association of race and ethnicity and medicare program type with ambulatory care access and quality measures. JAMA. 2021 agosto 17; 326 (7): 628-636. doi: 10.1001 / jama.2021.10413.

[2] Naderi SH, Bestwick JP, Wald DS. Adesão a medicamentos que previnem doenças cardiovasculares: meta-análise em 376.162 pacientes. Am J Med. 2012; 125(9): 882-887.e1.

(Artigo de jornal, mais de 6 autores)

[3] Guilbert TW, Morgan WJ, Zeiger RS, Mauger DT, Boehmer SJ, Szeffler SJ, et al. Long-term inhaled corticosteroids in preschool children at high risk for asthma. N Engl J Med. 2006 May 11;354(19):1985-1997. (Artigos de jornal pré-impresos)

[4] Silas P, Yates JR, Haynes PD. Investigação funcional da densidade da transição de fase romboédrica para cúbica simples do arsénio. A ser publicado na Physical Review B. Arxiv. [Preprint] 2008. Disponível em: <http://arxiv.org/abs/0810.1692> [Acedido em 23 de Julho de 2010].

(Estilo de livro)

[5] Arens AA. Auditoria na Austrália: uma abordagem integrada. 5th ed. Frenchs Forest: Pearson Education Australia; 2002.

[6] Simons NE, Menzies B, Matthews M. A Short Course in Soil and Rock Slope Engineering. London: Thomas Telford Publishing; 2001.

(Capítulo de livro)

[7] Chen WK. Linear Networks and Systems, Belmont, CA: Wadsworth, 1993, pp. 123-135.

[8] Poor H. An Introduction to Signal Detection and Estimation; New York: Springer-Verlag, 1985, cap. 4.

(Estilo de livro com título do artigo e editor)

[9] Scholtz RA. The Spread Spectrum Concept. In: Multiple Access. Abramson N. Ed. Piscataway, NJ: IEEE Press, 1993, cap. 3, pp. 121-123.

[10] Young GO. Synthetic structure of industrial plastics. In" Plastics, 2nd ed. vol. 3, Peters J, Ed. New York: McGraw-Hill, 1964, pp. 15-64.

(Publicado no estilo de Actas de Conferência)

[11] Kasmani MB. A Socio-linguistic Study of Vowel Harmony in Persian (Different Age Groups Use of Vowel Harmony Perspective). Actas Internacionais de Desenvolvimento e Investigação Económica, ed. Chen Dan, pp. 359 e 359, respectivamente. Chen Dan, pp. 359-366, vol. 26, Singapura, 2011.

[12] Harnden P, Joffe JK, Jones WG, editores. Germ cell tumours V. Proceedings of the 5th Germ Cell Tumour Conference; 2001 Sep 13-15; Leeds, UK. New York: Springer; 2002.

(estilo Tese ou Dissertação)

[13] Williams J. Analisador de banda estreita. Tese de doutoramento. Universidade de Harvard; 1993.

[14] Kawasaki N. Parametric study of thermal and chemical

nonequilibrium nozzle flow. Tese de Mestrado, Universidade de Osaka, 1993.

(Estilo de patente)

[15] J. P. Wilkinson. Dispositivos de circuitos ressonantes não lineares. Patente dos EUA 3 624 12, 16 de Julho de 1990.

(Estilo das normas)

[16] Símbolos de letras para quantidades. Norma ANSI Y10.5-1968.

[17] British Standards Institution. BS EN 1993-1-2:2005. Eurocódigo 3. Projecto de estruturas de aço. Regras gerais. Projecto estrutural ao fogo. Londres: BSI; 2005.

(Estilo de manual)

Transmission Systems for Communications, 3ª ed., Western Electric Co., Winston-Salem, NC, 1985, pp. 44-60.

[19] Motorola Semiconductor Data Manual, Motorola Semiconductor Products Inc., Phoenix, AZ, 1989.

(Artigos não em inglês)

[20] Forneau E, Bovet D. Recherches sur l'action sympatholytique d'un nouveau dérivé du dioxane. Arch Int Pharmacodyn. 1933;46:178-191. Francês.

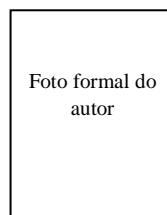
(Página Web/ Website)

[21] Wikipedia.org. Introdução à relatividade geral [Internet]. 2021 [actualizado em 28 de Maio de 2021; citado em 13 de Julho de 2021]. [9 telas]. Disponível em: https://en.wikipedia.org/wiki/Introduction_to_general_relativity.

[22] Queensland University of Technology. Writing literature reviews. [Internet] 2010 [updated 2020 Jun 23; cited 2020 Dec 6]; Disponível em: <http://www.citewrite.qut.edu.au/write/litreviews.jsp>.

[23] Queensland University of Technology. Redigir revisões de literatura. [Internet] 2010 [updated 2020 Jun 23; cited 2020 Dec 6]; Available from: <http://www.citewrite.qut.edu.au/write/litreviews.jsp>.

(Todos os autores podem incluir biografias com fotografias no final dos trabalhos).



foi obtido. A área de estudo principal do autor deve ser apresentada em minúsculas.

O segundo parágrafo utiliza o pronome de pessoa (ele ou ela) e não o apelido do autor. Enumera a experiência militar e profissional, incluindo empregos de Verão e bolsas de estudo. Os títulos dos empregos são escritos em maiúsculas. O emprego actual deve ter uma localização; os empregos anteriores podem ser indicados sem localização. Podem ser incluídas informações relativas a publicações anteriores. Tente não listar mais de três livros ou artigos publicados. O formato para listar as editoras de um livro dentro da biografia é o título do livro (cidade, estado: nome da editora, ano) semelhante a uma referência. Os interesses de investigação actuais e anteriores terminam o parágrafo.

O terceiro parágrafo começa com o título e o apelido do autor (por exemplo, Dr. Smith, Prof. Jones, Sr. Kajor, Sra. Hunter). Enumerar os membros de outras sociedades profissionais para além da IAENG. Por último, indique eventuais prémios e trabalhos em comités e publicações. Se for fornecida uma fotografia, a biografia será indentada à volta da mesma. A fotografia é colocada no canto superior esquerdo da biografia. Os passatempos pessoais serão eliminados da biografia.