

Universidade Evangélica de Goiás – UniEVANGÉLICA
Curso de medicina

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE *Sapium haemospermum*
SOBRE *Candida parapsilosis***

Amanda Fernandes de Sousa Oliveira Balestra
Flávia Pascoal Teles
Jade Rabelo Parreira
Letícia Silva Andrade
Nathália Kriss Ribeiro de Resende

Anápolis, Goiás
2022

Universidade Evangélica de Goiás – UniEVANGÉLICA
Curso de medicina

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE *Sapium haemospermum*
SOBRE *Candida parapsilosis***

Trabalho de Curso apresentado à Iniciação Científica do curso de Medicina da Universidade Evangélica de Goiás – UniEVANGÉLICA, sob a orientação do Prof. Dr. Humberto de Sousa Fontoura.

Anápolis, Goiás
2022

ANEXO 5- CARTA DE ENCAMINHAMENTO

ENTREGA DA VERSÃO FINAL DO TRABALHO DE CURSO PARECER FAVORÁVEL DO ORIENTADOR

À

Coordenação de Iniciação Científica

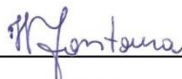
Faculdade da Medicina – UniEvangélica

Eu, Prof^(a) Orientador Humberto de Sousa Fontoura venho, respeitosamente, informar a essa Coordenação, que os(as) **acadêmicos(as)** Amanda Fernandes de Sousa Oliveira Balestra, Flávia Pascoal Teles, Jade Rabelo Parreira, Leticia Silva Andrade e Nathália Kriss Ribeiro de Resende, estão com a versão final do trabalho intitulado Avaliação da atividade antifúngica de Sapium pronta para ser entregue a esta coordenação. haematosperm sobre Candida parapsilosis

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

Observações:

Anápolis, 11 de maio de 2022.



Professor(a) Orientador(a)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo geral.....	10
2.2 Objetivos específicos.....	10
3. REFERENCIAL TEÓRICO	11
3.1 <i>Candida parapsilosis</i>	11
3.2 Candidíases	13
3.2.1 Candidíase oral	14
3.2.2 Candidíase esofágica.....	14
3.2.3 Candidíase mucocutânea	15
3.2.4 Candidíase vulvovaginal	15
3.2.5 Candidúria	16
3.2.6 Candidíase hematogênica	16
3.3 Medicamentos tradicionalmente utilizados no tratamento de candidíases.....	17
3.3.1 Candidíase oral	18
3.3.2 Candidíase esofágica.....	19
3.3.3 Candidíase cutânea.....	19
3.3.4 Candidíase vulvovaginal	19
3.3.5 Candidúria	19
3.3.6 Endoftalmite por cândida	20
3.3.7 Candidíase disseminada	20
3.4 Uso de plantas medicinais na busca por novos fármacos	20
3.5 <i>Sapium haemospermum</i>	22
4. METODOLOGIA.....	24
4.1 Coleta do material vegetal	24

4.2 Obtenção dos extratos de <i>S. haematospermum</i>	24
4.3 Cultivo e manutenção do fungo	24
4.4 Teste de sensibilidade em placas	24
4.5 Teste de sinergismo	25
4.6 Teste de sensibilidade por disco de difusão	25
5. RESULTADOS	26
5.1 Obtenção dos extratos de <i>S. haematospermum</i>	26
5.2 Teste de sensibilidade em placas	26
5.3 Teste de sinergismo	26
5.4 Teste de sensibilidade por disco de difusão	27
6. DISCUSSÃO	28
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

RESUMO

A candidíase é uma infecção fúngica que acomete seres humanos e apresenta uma grande importância médica, especialmente se tratando da *Candida albicans*, que é um dos agentes etiológicos mais comuns. No entanto, têm-se emergido episódios de candidíase causada por outras espécies, como a *Candida parapsilosis*. A *Sapium haematospermum*, conhecida, popularmente, como pau-de-leite, é uma árvore que apresenta distribuição geográfica brasileira extensa e tem sido estudada pela sua capacidade anti-inflamatória e pela potencial atividade antifúngica. Mesmo com as medidas terapêuticas usadas no momento, existe um número limitado de agentes antifúngicos disponíveis e aumento da resistência a esses, aumentando a demanda por novas alternativas de tratamento. Nessa perspectiva, o presente trabalho tem como objetivo analisar a atividade antifúngica de *S. haematospermum* sobre *C. parapsilosis*. Para tal, realizou-se um estudo experimental de caráter quantitativo, realizado em laboratório por meio da preparação dos extratos de *S. haematospermum* e do cultivo e manutenção do fungo da cepa de *C. parapsilosis* em condições específicas. Posteriormente, aplicou-se testes, como sensibilidade em placas, sinergismo e sensibilidade por disco de difusão. Os resultados demonstram que a presença do extrato hídrico de *S. haematospermum*, em diferentes concentrações, não foi capaz de inibir o crescimento de *C. parapsilosis*. Todavia, se observou atividade sinérgica entre a folha e o fluconazol, bem como sensibilidade, demonstrada pela formação dos halos de inibição. Conclui-se que o extrato de *S. haematospermum* não apresenta atividade antifúngica sobre *C. parapsilosis* de maneira dose-dependente, mas possui atividade sinérgica com o fluconazol, de modo que as células fúngicas cresçam e formem colônias com dificuldade.

Palavras-chave: Candidíase; *Candida parapsilosis*; *Sapium haematospermum*; Plantas Medicinais; Supressão.

ABSTRACT

Candidiasis is a fungal infection that affects humans and is of great medical importance, especially when it comes to *Candida albicans*, which is one of the most common etiologic agents. However, episodes of candidiasis caused by other species, such as *Candida parapsilosis*, have emerged. *Sapium haematospermum*, popularly known as “pau-de-leite”, is a tree that has an extensive Brazilian geographic distribution and has been studied for its anti-inflammatory capacity and potential antifungal activity. Even with the therapeutic measures used at the moment, there are a limited number of antifungal agents available and resistance to these increases, increasing the demand for new treatment alternatives. In this perspective, the present work aims to analyze the antifungal activity of *S. haematospermum* on *C. parapsilosis*. To this end, an experimental study of quantitative character was, carried out in the laboratory through the preparation of extracts of *S. haematospermum* and the cultivation and maintenance of the fungus of the strain of *C. parapsilosis* under specific conditions. Subsequently, tests such as plate sensitivity, synergism and diffusion disk sensitivity were applied. The results demonstrate that the presence of the water extract of *S. haematospermum*, in different concentrations, was not able to inhibit the growth of *C. parapsilosis*. However, synergistic activity was observed between the leaf and fluconazole, as well as sensitivity, demonstrated by the formation of inhibition zone. It is concluded that the extract of *S. haematospermum* does not show antifungal activity against *C. parapsilosis* in a dose-dependent, but has synergistic activity with fluconazole, so that the fungal cells grow and form colonies with difficulty.

Keywords: Candidiasis; *Candida parapsilosis*; *Sapium haematospermum*; Plants; Medicinal; Suppression.

1. INTRODUÇÃO

Dentre os fungos patogênicos ao ser humano, os integrantes do gênero *Candida* representam grande importância (CALDERONE, 2002). Apesar de *Candida albicans* ser o agente causador da maior parte das doenças ocasionadas por fungos, a quantidade de infecções por outras espécies amplificou-se, como infecções por *Candida parapsilosis* (SAMARANAYAKE, 2002; GAYOSSO, 2008). A patogenicidade das espécies de *Candida* depende da aderência e constituição de biofilme nos tecidos do hospedeiro e em dispositivos, evasão ao sistema imune e destruição tecidual causada por enzimas hidrolíticas (BUTLER *et al.*, 2009). A formação de biofilme pela *C. parapsilosis*, além de correlacionar-se com o aumento da morbimortalidade, torna pacientes receptores de nutrição parenteral mais suscetíveis, sobretudo em ambientes hospitalares (KUMAMOTO, 2002; NOSEK *et al.*, 2009).

A candidíase é a infecção fúngica causada por leveduras do gênero *Candida*, sendo que o tipo mais encontrado como causador de infecção em seres humanos é a *C. albicans* (CDC, 2019). A infecção por *Candida* é instalada a partir do momento que a levedura rompe as barreiras mucosas dos sítios onde se encontra como residente normal do corpo, após alguma alteração nos mecanismos de defesa do organismo (MAGRI, 2016). Atualmente já são conhecidas mais de 150 espécies de *Candida* e todas elas podem causar as mesmas apresentações clínicas, como fungemia, endocardite, artrite, meningite, endoftalmite, osteomielite, entre outros (MORETTI, 2015). Entre elas serão abordadas no presente estudo as seguintes formas clínicas: Candidíase Oral, Candidíase Esofágica, Candidíase Cutânea, Candidíase Vulvovaginal, Candidúria e Candidíase Hematogênica.

As terapias medicamentosas, para cada tipo de candidíase, são restritas e muitas vezes apresentam interações medicamentosas, toxicidade e alto custo (MAGRI, 2016). Os medicamentos, tradicionalmente utilizados, dependem dos seus sítios de ligação para a ação antifúngica (BRUNTON; PARKER, 2012). Entre as opções farmacológicas, tem-se os polienos, a anfotericina B deoxicolato e suas formulações lipídicas, os azólicos e as equinocandinas. A resistência dos fungos a essas drogas está relacionada ao uso prolongado, profilático e inapropriado, como as automedicações.

No começo dos tempos, os egípcios e chineses foram os pioneiros no uso de plantas para fins de cura. O uso de plantas medicinais foi sendo incorporado na história por várias outras civilizações antigas (JAMSHIDI-KIA; LORIGOOINI; AMINI-KHOEI, 2018). Atualmente, a Organização Mundial da Saúde (OMS) demonstrou que 80% da população mundial usa medicamentos fitoterápicos para algum aspecto da atenção primária à saúde

(APS). A fitoterapia é o uso de plantas com finalidade medicinal e terapêutica para a cura de doenças e melhora da saúde humana (SHAKYA, 2016). Nesse cenário, por existir um número limitado de agentes antifúngicos disponíveis, existe uma demanda crescente por novas alternativas de tratamento e novos estudos sobre a utilização de plantas no tratamento da *Candida spp.*, auxiliando a ciência a encontrar as melhores evidências para produção de um novo medicamento (CORREIA, 2016).

A espécie *Sapium haematospermum* (L.) Morong é conhecida popularmente como leiteiro, pau-de-leite ou figueirinha. É uma árvore inerme, latescente, perenifólia ou subcaducifólia e sua altura pode atingir cerca de 10-18 metros (m) e 30-35 centímetros (cm) de diâmetro (SOUZA; LORENZI, 2005). A espécie *S. haematospermum* floresce entre agosto e outubro e apresenta frutos maduros entre dezembro e fevereiro e é típica do cerrado brasileiro (FERREIRA *et al.*, 2009). O gênero *Sapium* é extensamente utilizado na medicina popular para o tratamento dos mais variados tipos de doenças, visto que a família a qual pertence é rica em compostos fenólicos (MENDES, 2015).

Diante do exposto, em razão das análises de relatos já existentes sobre os antifúngicos tradicionalmente utilizados, torna-se necessário a busca por novos candidatos a fármacos. Nesse sentido, tem-se como objetivo do presente estudo analisar a atividade antifúngica de *S. haematospermum* sobre *C. parapsilosis* por meio da análise da capacidade inibitória de extratos de diferentes partes da referida planta sobre o fungo em questão.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Analisar a atividade antiproliferativa da *S. haematospermum* contra células de *C. parapsilosis*.

2.2 Objetivos específicos

- Obter o extrato hídrico de *S. haematospermum*;
- Investigar a ação da *S. haematospermum* contra a proliferação de células da *C. parapsilosis*;
- Reconhecer a atividade sinérgica ou antagônica do extrato da *S. haematospermum* com fluconazol.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

O referencial teórico da presente pesquisa organizou-se em cinco tópicos, a saber: (3.1) *Candida parapsilosis*; (3.2) Candidíases; (3.3) Medicamentos tradicionalmente utilizados no tratamento de candidíases; (3.4) Uso de plantas medicinais na busca por novos fármacos; (3.5) *Sapium haematospermum*.

3.1 *Candida parapsilosis*

Os fungos, objetos de estudo da micologia, são organismos eucariontes, aeróbicos ou anaeróbicos facultativos, com esteróis presentes na membrana celular, parede celular composta por glicanas, mananas e quitina. As características dos fungos relacionam-se com as colônias e os esporos reprodutivos. Em relação aos arranjos vegetativos tem-se: (1) fungos filamentosos e carnosos: estrutura com hifas septadas ou com hifas cenocíticas que multiplicam-se por prolongamento das extremidades, diferenciando-se em aéreas e vegetativas; (2) leveduras: organismos unicelulares, não filamentosos, tipicamente ovais ou esféricos, com reprodução por brotamento (leveduras de brotamento) ou bipartição (leveduras de fissão); e (3) fungos dimórficos: apresentam tanto a forma de desenvolvimento em hifas, quanto a forma de levedura. Quanto ao ciclo de vida, pode-se observar reprodução assexuada por meio do quebraamento das hifas dos fungos filamentosos, bem como reprodução assexuada e sexuada por meio de esporos assexuais e sexuais, respectivamente (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

O aspecto macroscópico das colônias do gênero *Candida* é demarcado por coloração variável entre o creme e o amarelo, mediante uso de ágar Sabouraud dextrose. Conforme a espécie, a textura diversifica-se entre opaco, rugoso, reluzente, seco ou liso (CALDERONE, 2002). A *C. parapsilosis*, descrita originalmente, em 1928, por Ashford, pertence ao reino Fungi, filo Ascomycota, subfilo Saccharomycotina, classe Saccharomycetes, ordem Saccharomycetales, família Saccharomycetaceae e gênero *Candida* (ASHFORD, 1928; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017). Possui estrutura formada por pseudo-hifas compridas e curvas, nomeadas como “células gigantes”. As demais células, costumam medir de 2,5 a 4 milímetros (mm) (LARONE, 2002; TROFA; GÁCSEK; NOSANCHUK, 2008). A colônia gerada pela *C. parapsilosis* em ágar Sabouraud dextrose é branca, cremosa, brilhante e varia entre lisa e rugosa (CALDERONE, 2002). Sobre a bioquímica, mostra-se desqualificada na fermentação de maltose, distinguindo-se da *C. albicans*, por exemplo, que fermenta diversos carboidratos, com exceção da sacarose (ODDS, 1988; TROFA; GÁCSEK; NOSANCHUK, 2008).

Os mecanismos de aderência, formação de biofilme em hospedeiros e dispositivos, evasão ao sistema imune e destruição tecidual por meio de enzimas hidrolíticas estão relacionados com a patogenicidade das espécies de *Candida*. Estudos relacionados com a bioinformática evidenciaram, no material genético da *C. parapsilosis*, genes de proteínas similares à adesina envolvidos na formação de biofilme, dependente da hidrofobicidade da superfície que se pretende aderir (PANAGODA; ELLEPOLA; SAMARANAYAKE, 2001; BUTLER *et al.*, 2009). A formação de biofilme pela *C. parapsilosis* correlaciona-se com o aumento da morbimortalidade, sendo mais comum em meios concentrados com glicose e lipídios, tornando pacientes receptores de nutrição parenteral mais suscetíveis (KUMAMOTO, 2002; NOSEK *et al.*, 2009). O biofilme da *C. parapsilosis* é fino, pouco estruturado, compreende exclusivamente blastoporos reunidos, muitos carboidratos e poucas proteínas (KUHN *et al.*, 2002; SILVA *et al.*, 2009). Os estudos sobre o controle da formação de biofilmes pela *C. parapsilosis* ainda são tímidos. Todavia, sabe-se que cepas mutantes possuem capacidade reduzida, em detrimento de cepas selvagens, na produção de tais comunidades biológicas (GÁCSEK *et al.*, 2007).

Ainda sobre a virulência, quanto maior a capacidade de opsonização e/ou quimiotaxia da *Candida*, maior a dificuldade de contenção e eliminação da infecção, de modo que a presença de adesinas funcionalmente distintas é o componente responsável por desencadear e modular a resposta imune ao promover o reconhecimento de receptores distintos nas células hospedeiras (MCADAM; MILNER; SHARPE, 2015; MAGRI, 2016). Além disso, a *Candida* é capaz de resistir à morte oxidativa pelas células fagocíticas (neutrófilos e macrófagos), em virtude da liberação de enzimas, como catalases (MCADAM; MILNER; SHARPE, 2015). A principal linha de defesa contra a *Candida* é por meio de macrófagos, neutrófilos e células NK da imunidade inata e as principais citocinas liberadas decorrentes do reconhecimento do fungo são a interleucina-1 (IL-1), fator de necrose tumoral- Alfa (TNF-Alpha), interferon-gama (IFN-gama), IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-13 e IL-17 (MAGRI, 2016).

A *C. parapsilosis* pode constituir microbiota normal da pele, comum na região subungueal de humanos saudáveis, fezes de pacientes com desnutrição, orofaringe de neonatos saudáveis, portadores assintomáticos de diabetes *mellitus* e no trato geniturinário feminino, com taxa menor que 10% (RUSSEL; LAY, 1973; MCGINLEY; LARSON; LEYDEN, 1988; GRACEY *et al.*, 1974; FISHER *et al.*, 1987). Em experimentos comparativos entre *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*, a *C. parapsilosis* mostrou-se menos invasiva em mucosa oral de ratos e aderiu com menor vigor em epitélios vaginais, bucais, vasculares e endotélios (HOWLETT, 1976; KING; LEE; MORRIS, 1980; KLOTZ *et al.*, 1983). Algumas das

infecções mais recorrentes ocasionadas por infecção pela *C. parapsilosis* são endocardite, endoftalmite pós-operatória, artrite e peritonite (JOACHIM; POLAYES, 1940; ROSEN; FRIEDMAN, 1973; ARFANIA, *et al.*, 1981).

3.2 Candidíases

A candidíase é a infecção fúngica causada por leveduras do gênero *Candida*, sendo que o tipo mais encontrado como causador de infecção em seres humanos é a *C. albicans* (CDC, 2019). Ainda de acordo com Moretti (2015), a candidíase é o resultado da interação entre o fungo e a imunidade natural e adaptativa do paciente. A *Candida* é uma residente normal do corpo, ou seja, vive como comensal benigno na microbiota de alguns locais, como a pele, a região orofaríngea, o trato gastrointestinal e a vagina. Esse desequilíbrio entre os mecanismos de defesa e o fungo caracteriza o principal tipo de infecção por *Candida*, a infecção endógena, apesar de também ser adquirida no ambiente hospitalar e na comunidade (MAGRI, 2016). Por razão desse rompimento, o fungo pode ficar confinado tanto em membranas mucosas quanto na pele ou ainda pode se disseminar amplamente, o que irá caracterizar cada tipo de candidíase (MCADAM; MILNER; SHARPE, 2015; MORETTI, 2015).

A transmissão da Candidíase ocorre por meio do contato com mucosas ou secreções de indivíduos doentes ou portadores do fungo, além da chamada transmissão vertical, que acontece durante o parto (BRASIL, 2010).

A situação do paciente no momento da infecção é um fator determinante para o desenvolvimento e severidade da doença. Nesse sentido, algumas situações mais comuns podem ser observadas, como o desenvolvimento de vaginite e exantema de fralda em pessoas saudáveis; candidíase superficial em pessoas após queimaduras ou com diabetes *mellitus* e disseminação do fungo para corrente sanguínea em pacientes com sondas intravenosas, cateteres de demora ou em diálise peritoneal (MCADAM; MILNER; SHARPE, 2015). Além desse fator, a espécie de *Candida* e sua respectiva capacidade de virulência, bem como a abordagem terapêutica no tratamento da candidíase são determinantes significativos, de modo que as infecções invasivas por representantes do gênero *Candida* ainda apresentam elevada morbimortalidade (MORETTI, 2015; MAGRI, 2016).

A candidíase não é uma doença de notificação compulsória, entretanto a vigilância epidemiológica é fundamental para tratar precocemente e evitar futuras complicações, bem como evitar a transmissão vertical. Além disso, algumas orientações devem ser feitas como medidas de controle, como a desinfecção das secreções e artigos contaminados, somados ao plano terapêutico farmacológico (BRASIL, 2010).

As principais formas clínicas encontradas, segundo divisão de Magri (2016), são: candidíase mucocutânea (oral, esofágica e cutânea), de trato geniturinário (vulvovaginite, balanopostite e candidúria) e a candidíase sistêmica/disseminada (candidemia, peritoneal, artrite, ocular, endocardite, de trato respiratório inferior, entre outras formas).

3.2.1 Candidíase oral

Em 80% dos casos, o agente etiológico responsável por essa infecção é a *C. albicans* e a resposta ao tratamento antifúngico costuma ser boa (MAGRI, 2016).

Há o desenvolvimento de pseudomembranas formadas de células epiteliais, leucócitos, leveduras e células necróticas sobre a mucosa da região orofaríngea que, após retirada, se apresenta dolorosa, inflamada, com a possibilidade de sangramento (MORETTI, 2015). Esse quadro clínico característico é popularmente conhecido como “sapinho” ou aftas (BRASIL, 2010; MAGRI, 2016).

Os principais sinais e sintomas são: presença de placas cremosas esbranquiçadas, semelhantes a leite coalhado, sobre a língua e a mucosa bucal, desconforto oral, dor em queimação, alteração do paladar e eritema difuso (MORETTI, 2015; MAGRI, 2016). Essas condições tornam a alimentação e o tratamento medicamentoso oral mais difícil (PAPPAS *et al.*, 2016).

Além desse quadro, outra forma comum é a queilite angular, que se caracteriza por fissuras eritematosas e dolorosas no canto da boca (MAGRI, 2016).

Pacientes com vírus da imunodeficiência humana/ síndrome da imunodeficiência adquirida (HIV/AIDS), transplantados, oncológicos, neonatos ou sob o uso de drogas imunossupressoras ou longo tratamento com antibióticos apresentam maiores chances de desenvolver a candidíase oral. Outros fatores de risco também incluem próteses dentárias, xerostomia e uso de corticoides inalatórios. (MCADAM; MILNER; SHARPE, 2015; MAGRI, 2016).

3.2.2 Candidíase esofágica

É comum a associação de candidíase esofágica e candidíase oral (80% dos casos), apesar da ausência de um dos quadros não excluir o diagnóstico do outro. O principal agente etiológico é a *C. albicans* (MAGRI, 2016; PAPPAS *et al.*, 2016).

É um quadro geralmente pouco sintomático, mas que tem como principais manifestações clínicas: disfagia, odinofagia e queimação retroesternal. Náuseas, vômitos e desidratação são os principais sintomas em crianças (PAPPAS *et al.*, 2016).

Há o desenvolvimento de placas brancas acompanhadas ou não de úlceras na região esofágica, semelhantes à candidíase oral). O quadro clínico assemelha-se ao causado por outros agentes, como o citomegalovírus e o herpes simples, o que requer um diagnóstico diferencial (MCADAM; MILNER; SHARPE, 2015; PAPPAS *et al.*, 2016).

A maioria dos pacientes que apresentam candidíase esofágica na prática clínica possuem diagnóstico confirmado de HIV/AIDS, sendo que outros fatores de risco também estão presentes, como diabetes *mellitus*, doenças esofágicas anteriores, desnutrição, alcoolismo, terapias com corticosteroides e antibióticos, idade avançada, endocrinopatias e insuficiência adrenal (MAGRI, 2016; PAPPAS *et al.*, 2016).

3.2.3 Candidíase mucocutânea

Existem diferentes formas de apresentação que são caracterizadas pelo local da infecção, como unha (onicomicose), dobras ungueais (paroníquia), folículos pilosos (foliculite), axilas ou tecidos das mãos e pés (intertrigo) e mucosa peniana (balanite) (MCADAM; MILNER; SHARPE, 2015). Há ainda a possibilidade de candidíase cutânea generalizada que, apesar de incomum, é mais frequente em crianças e se apresenta por erupções generalizadas sobre o tronco, tórax e extremidades (MAGRI, 2016).

O intertrigo está associado com regiões mais quentes e úmidas do corpo, sendo caracterizado por eritema, vesículas e pústulas, que podem evoluir para fissuras e descamação. A paroníquia e a onicomicose estão associadas com condições predisponentes, como diabetes *mellitus*, umidade e imersão frequente das mãos em água, sendo o agente etiológico mais comum a *C. albicans*. Nesses casos, há ainda a possibilidade de desenvolvimento de candidíase mucocutânea crônica (MAGRI, 2016).

3.2.4 Candidíase vulvovaginal

Vulvovaginites são uma das causas mais comuns de corrimento vaginal patológico, o que leva muitas mulheres tanto ao consultório ginecológico, quanto à prática de automedicação, fator que dificulta o sucesso terapêutico. Vale ressaltar que, para diagnóstico de vulvovaginite, é necessário a diferenciação do corrimento até então patológico das descargas vaginais fisiológicas, as quais variam de acordo com as fases do ciclo menstrual (FEBRASGO, 2010).

Em mais de 80% dos casos, o agente etiológico responsável pela infecção é a *C. albicans*, sendo que, durante a vida reprodutiva, até 50% das mulheres podem ser assintomáticas, mesmo colonizadas, já que a *Candida* faz parte da microbiota endógena.

Apesar de ser natural da maioria das mulheres, é vista com maior frequência naquelas com vida sexual ativa, muito provavelmente relacionado à penetração de microrganismos no epitélio por micro abrasões. Nos casos sintomáticos, há ainda a candidíase vulvovaginal (CVV) recorrente, que se caracteriza por quatro ou mais episódios em um ano e pela investigação de causas sistêmicas predisponentes (BRASIL, 2015). Os casos de CVV aumentam após a menarca e apresentam pico entre 30 e 40 anos (FEBRASGO, 2010). Estados hiperestrogênicos, diabetes *mellitus*, imunossupressão por medicamentos ou por doenças de base, gravidez e hábitos alimentares são alguns fatores de risco que propiciam o desenvolvimento da infecção (FEBRASGO, 2010; LOPES, 2016).

Os sinais e sintomas não são patognomônicos de CVV, mas os principais são: prurido de intensidade variável, ardência, corrimento vaginal sem odor e grumoso, dispareunia de introito vaginal e disúria externa (FEBRASGO, 2010). Já os sinais característicos são: eritemas e fissuras vulvares, corrimento grumoso com placas branco-acinzentadas aderidas à parede vaginal, edema vulvar, hiperemia, escoriações e lesões satélites. Muitas vezes a queixa para o corrimento é do tipo “coalhada” (FEBRASGO, 2010; MCADAM; MILNER; SHARPE, 2015).

Os parceiros sexuais que apresentarem sintomas precisam ser tratados, sendo que uma minoria do sexo masculino apresenta balanite e/ou balanopostite, caracterizadas por áreas eritematosas na glândula do pênis, prurido ou irritação (BRASIL, 2015).

3.2.5 Candidúria

Candidúria é a presença da *Candida*, na urina e, geralmente, não indica infecção do trato urinário em pessoas saudáveis, sendo que a infecção do trato urinário superior hematogênica e em pacientes hospitalizados é mais comum (MORETTI, 2015; MAGRI, 2016).

Os agentes etiológicos encontrados nesse quadro clínico são *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*. Alguns fatores de risco para candidúria são: uso prévio de antibióticos, uso de cateteres vesicais, diabetes mellitus, cálculo urinário ou obstrução de via urinária, idade avançada, sexo feminino e malignidades (MAGRI, 2016; PAPPAS *et al.*, 2016).

3.2.6 Candidíase hematogênica

Candidíase hematogênica engloba todas as infecções envolvendo a presença de *Candida* na corrente sanguínea e pode ser dividida em: candidemia, candidíase disseminada, candidíase invasiva e candidíase associada a cateter vascular central (CVC) (MORETTI, 2015).

Em 2015, para cada 10 mil pacientes internados de alto risco, 5 a 10 desenvolveriam candidemia, sendo mais comum em pacientes imunossuprimidos, pacientes submetidos a procedimentos invasivos como uso de CVC, respiradores mecânicos, quimioterapia, corticosteroides, antibióticos de amplo espectro e neonatos de baixo peso e prematuros (MORETTI, 2015; MAGRI, 2016). No entanto, esse padrão sofreu mudanças e, na América do Sul, por exemplo, a *C. parapsilosis* é a espécie não albicans mais importante.

Qualquer fator que leve ao desequilíbrio da microbiota da mucosa gastrointestinal pode facilitar a translocação da *Candida* para os capilares mesentéricos e, portanto, sua disseminação (PAPPAS *et al.*, 2016). Assim, quadros que afetam esse equilíbrio, como jejum prolongado, nutrição parenteral total e hipotensão, também são fatores de risco para candidemia.

Candidemia é a presença de qualquer espécie de *Candida* isolada em pelo menos uma cultura de sangue. Mesmo sem sinais evidentes de infecção, deve ser considerado o tratamento com antifúngico sistêmico. É considerada candidíase disseminada aguda em casos de acometimento de múltiplos órgãos ou endoftalmite, e a primeira manifestação clínica pode ser o aparecimento de lesões cutâneas em forma de pequenos nódulos ou lesão maculopapular eritematosa (MORETTI, 2015; PAPPAS *et al.*, 2016). Quando se apresentam como infecções hospitalares, as taxas de morbimortalidade são elevadas. Os agentes etiológicos mais encontrados são: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. glabrata*. (MAGRI, 2016).

Já a forma candidíase disseminada crônica, também conhecida como candidíase hepatoesplênica, ocorre em períodos prolongados de neutropenia nos casos de pacientes leucêmicos, anemia aplásica ou síndromes mielodisplásicas. Essa infecção é caracterizada por febre alta persistente, dor abdominal, icterícia, anorexia, perda de peso, náuseas e aumento das enzimas hepáticas (MORETTI, 2015; PAPPAS *et al.*, 2016).

A candidíase invasiva é caracterizada pela disseminação hematogênica do fungo para vários tecidos e órgãos, a qual pode evoluir para infecção sistêmica, sendo que a endocardite por *Candida* é a endocardite fúngica mais comum (MORETTI, 2015; MCADAM; MILNER; SHARPE, 2015). Em pacientes que utilizam o CVC, a *Candida* forma um biofilme e age como um foco de infecção caso não seja retirado. Somente é definida quando excluídas quaisquer outras fontes de infecção (MORETTI, 2015).

3.3 Medicamentos tradicionalmente utilizados no tratamento de candidíases

As terapias medicamentosas, para cada tipo de candidíase, são limitadas e muitas vezes acompanhadas de interações medicamentosas, toxicidade e alto custo. Dentre as drogas

usadas pode-se encontrar: os polienos, a anfotericina B deoxicolato e suas formulações lipídicas, os azólicos (itraconazol, fluconazol, voriconazol) e as equinocandinas (caspofungina, anidulafungina e micafungina). Por muito tempo, utilizou-se o fluconazol como droga de primeira linha para o tratamento de candidíase. Porém, as espécies resistentes ao fluconazol, como a *C. krusei*, e as que facilmente se tornam resistentes, como a *C. glabrata*, começaram a ganhar importância, além do fato de cepas de *C. albicans* e *C. tropicalis* passarem a apresentar diminuição de sensibilidade. As manifestações clínicas variadas e a alta mortalidade começaram a demandar conhecimento da sensibilidade aos antifúngicos para garantir melhor assistência para o tratamento das infecções por *Candida* (MAGRI, 2016).

Os medicamentos tradicionalmente utilizados dependem dos seus sítios de ligação para a ação antifúngica: anfotericina B e outros polienos, como a nistatina, ligam-se ao ergosterol nas membranas celulares fúngicas e aumentam a permeabilidade da membrana. Os azólicos inibem a 14- α -esterol demetilase, impedindo a síntese do ergosterol e levando ao acúmulo de 14- α -metilesteróis. As equinocandinas inibem a formação de glicanos na parede celular fúngica (BRUNTON; PARKER, 2012).

Os efeitos colaterais variam de acordo com a classe do medicamento. A anfotericina B, por exemplo, é dividida em duas formas conforme a toxicidade: por infusão, que consiste em febre, calafrios, espasmos musculares, vômitos, cefaleia e hipotensão; e toxicidade cumulativa, que consiste em lesão renal, anormalidades na função hepática e variado grau de anemia. O grupo dos azóis é relativamente atóxico, sendo o efeito colateral mais comum o desconforto gastrointestinal, além de que todos tendem a produzir interações medicamentosas que afetam o sistema de enzimas do citocromo P450. Os agentes equinocandinos são muito bem tolerados, com efeitos colaterais gastrointestinais, alguns poucos relatos de rubor e elevação das enzimas hepáticas em diversos pacientes que receberam caspofungina em combinação com ciclosporina (SHEPPARD; LAMPIRIS, 2017).

3.3.1 Candidíase oral

Para o tratamento da candidíase oral são prescritos medicamentos antifúngicos tópicos, como a nistatina ou o miconazol (NETO *et al.*, 2005). Para doença leve, são recomendados trociscos de clotrimazol, 10 miligramas (mg), 5 vezes ao dia, ou comprimido bucal mucoadesivo de miconazol de 50 mg, aplicado na superfície da mucosa sobre a fossa canina, 1 vez ao dia, de 7 a 14 dias. Para doença moderada a grave, recomenda-se fluconazol oral, 100 a 200 mg por dia, de 7 a 14 dias (PAPPAS *et al.*, 2016).

3.3.2 Candidíase esofágica

Para pacientes que não toleram a terapia oral, tem-se a opção de fluconazol, via endovenosa, 400 mg por dia, ou uma equinocandina como: micafungina, 150 mg por dia, caspofungina, dose de ataque de 70 mg, depois 50 mg por dia, ou anidulafungina, 200 mg por dia. Caso o paciente tolere a terapia oral, fluconazol 200 a 400 mg (PAPPAS *et al.*, 2016).

3.3.3 Candidíase cutânea

O tratamento recomendado é manter a área da pele afetada sem umidade e, aplicação de antifúngicos tópicos como: clotrimazol, miconazol, econazol, tioconazol, sulconazol, cetoconazol ou bifonazol (PAPPAS *et al.*, 2004).

3.3.4 Candidíase vulvovaginal

Existe uma grande variedade de tratamentos para candidíase vulvovaginal, dentre elas: Miconazol, creme vaginal a 2%, via vaginal, uma aplicação no período noturno, ao deitar, por 7 dias; Clotrimazol, creme vaginal a 1%, via vaginal, uma aplicação no período noturno, ao deitar, por 6 a 12 dias; Clotrimazol, óvulos de 100 mg, via vaginal, uma aplicação no período noturno, ao deitar, por 7 dias; Tioconazol, creme vaginal a 6,5%, ou óvulos de 300mg, via vaginal, uma aplicação no período noturno, ao deitar; Nistatina 100.000 UI, via vaginal, uma aplicação no período noturno, ao deitar, por 14 dias; Fluconazol 150 mg, via oral em dose única; Itraconazol 200mg, via oral, de 12em 12 horas, em 1 dia; ou Cetoconazol 400mg, via oral, por 5 dias.

As escolhas, como terceira opção, são: Miconazol, creme a 2%, via vaginal, uma aplicação no período noturno, ao deitar, por 7 dias; Clotrimazol, creme vaginal a 1%, via vaginal, uma aplicação no período noturno, ao deitar, por 6 a 12 dias; Clotrimazol, óvulos de 100 mg, via vaginal, uma aplicação no período noturno, ao deitar, por 7 dias; ou Nistatina 100.000 UI, via vaginal, uma aplicação no período noturno, ao deitar, por 14 dias (JACYNTO, 2010).

3.3.5 Candidúria

Recomenda-se fluconazol 200mg por dia, via oral, durante 2 semanas, além de remoção do cateter vesical permanente, se possível. A irrigação da bexiga com desoxicolato AmB, 50 mg/L, estéril, diariamente por 5 dias, pode ser útil para o tratamento de cistite causada por espécies resistentes ao fluconazol, como *C. glabrata* e *C. krusei* (PAPPAS *et al.*, 2016).

3.3.6 Endoftalmite por cândida

Recomenda-se fluconazol, dose de ataque, 800 mg, então 400 a 800 mg por dia ou voriconazol, dose de ataque, 400 mg endovenoso, duas vezes ao dia para 2 doses, então 300 mg endovenoso ou oral duas vezes ao dia. A duração do tratamento deve ser de pelo menos 4 a 6 semanas, com a duração final dependendo da resolução das lesões conforme determinado por exames oftalmológicos (PAPPAS *et al.*, 2016).

3.3.7 Candidíase disseminada

A terapia deve continuar até que as lesões desapareçam, o que geralmente leva vários meses. A descontinuação prematura do tratamento pode levar ao retorno da doença. A terapia recomendada é formulação lipídica AmB, 3–5 mg/kg/dia ou equinocandina como: micafungina 100 mg por dia; caspofungina de 70 mg, depois 50 mg por dia; ou anidulafungina de 200 mg, então 100 mg por dia, por várias semanas, seguido por fluconazol oral, 400 mg por dia, para pacientes que provavelmente têm resistência ao fluconazol. Para pacientes com febre persistente debilitante pode-se considerar o tratamento de curto prazo com anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) ou corticosteroides (PAPPAS *et al.*, 2016).

3.4 Uso de plantas medicinais na busca por novos fármacos

A relação do ser humano com as plantas é de longa data. Nos primórdios da humanidade, o homem procurou em seu ambiente algo que pudesse tratar suas enfermidades encontrando as plantas para tal fim (JAMSHIDI-KIA, LORIGOOINI, AMINI-KHOEI, 2018). Mesmo com a produção de fármacos sintéticos pela indústria, vários países em desenvolvimento dependem fortemente de fitoterápicos e plantas medicinais para atender às necessidades de cuidados primários de saúde. Além disso, a indústria farmacêutica precisa do estudo de plantas para desenvolver novos fármacos (SINGH, 2015).

No século XXI, os produtos naturais representam mais de 50% de todos os medicamentos em uso clínico. Ainda, a Organização Mundial da Saúde (OMS) demonstrou que 80% da população mundial usa medicamentos fitoterápicos para algum aspecto da atenção primária à saúde (SHAKYA, 2016). Esse grande uso é decorrente dos fitoterápicos apresentarem menos efeitos adversos do que os medicamentos sintéticos (JAMSHIDI-KIA, LORIGOOINI, AMINI-KHOEI, 2018; SINGH, 2015).

A produção dos fitoterápicos foi concomitante com o desenvolvimento da química e isolamento, purificação e determinação de compostos vegetais. Dessa forma, descobriu-se que as plantas têm grande eficácia terapêutica. Seus papéis farmacológicos são: antioxidantes,

antivirais, anticânceres, antibióticos, antifúngicos e antiparasitários (JAMSHIDI-KIA, LORIGOOINI, AMINI-KHOEI, 2018). O território brasileiro apresenta cerca de 20% da biodiversidade mundial, um vasto território na busca de novos fármacos. As diferentes apresentações dos produtos utilizados como tintura, extrato etanólico, óleo essencial, assim como a forma de apresentação em gel, soluções orais e chá por decocção, dificultam a comparação nos resultados de certas plantas. Dessa forma, para chegar a um consenso científico é difícil, porém capaz de ser superado (SANTOS; PEREIRA, 2019).

Assim, fitoterapia é o uso de plantas com finalidade medicinal e terapêutica para a cura de doenças e melhorar a saúde humana (SHAKYA, 2016). As plantas produzem dois metabólitos: primário e secundário. O primeiro está relacionado com o seu crescimento e desenvolvimento, sendo os metabólitos: carboidratos, aminoácidos, nucleotídeos, ácidos graxos, esteroides e lipídios. Isso ocorre em todas as plantas. Já o outro, é produzido de acordo com família de plantas, células ou estágios de desenvolvimento da planta.

Os metabólitos secundários são: terpenoides, metabólitos de nitrogênio especiais (incluindo aminoácidos não-proteicos, aminas, glicosídeos cianogênicos, glucosinolatos e alcaloides), flavonoides, taninos e fenólicos (SINGH, 2015). Esses são chamados de fitoquímicos, sendo responsáveis por proteger as plantas contra infecções microbianas ou infestações por pragas. Portanto, possuem ação farmacológica, sendo usados como possíveis drogas. Podem ser extraídos de diferentes partes da planta como sementes, raízes, folhas, frutos, cascas, flores ou até mesmo da planta inteira (SHAKYA, 2016). Existe um crescente interesse no uso de taninos, por agirem sobre as membranas de bactérias e fungos (SANTOS; PEREIRA, 2019). Nesse cenário, encontra-se vários estudos com o uso de diferentes plantas medicinais no tratamento de *Candida*. Em virtude de existir número limitado de agentes antifúngicos disponíveis, cresce a demanda por novas alternativas de tratamento. Além disso, a elevada resistência aos antifúngicos e os efeitos colaterais instigam a ciência na busca de fármacos com efeito antimicrobiano eficaz e poucos efeitos adversos (CORREIA, 2016).

Os estudos sobre o uso de plantas medicinais no tratamento de *Candida*, auxilia a ciência a encontrar as melhores evidências para produzir um novo medicamento. Como exemplo, já se sabe que o extrato aquoso da *Eugenia dysenterica* é eficaz contra *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. famata*, exceto para *C. albicans* e *C. glabrata*. Por isso, é de extrema relevância o estudo de plantas medicinais na produção de novos fármacos, tanto para *Candida*, como outros microorganismos patológicos. Vários medicamentos que estão em circulação no mercado vieram dessas plantas como

quinino, digoxina, aspirina, efedrina, atropina e colchicina (CORREIA, 2016; JAMSHIDI-KIA; LORIGOOINI; AMINI-KHOEI, 2018).

Entretanto, mesmo diante da grande utilização das plantas medicinais, existem muitos desafios na utilização delas pela indústria farmacêutica. Discute-se que o uso de plantas medicinais para tratamento e experimentação possam causar mudanças inesperadas na sua bioatividade ou mudanças e perdas de bioatividade graças à variabilidade e acumulação, armazenamento e preparação de matérias-primas, como também, sobre a qualidade do produto à base de planta, a padronização de matérias-primas e contaminação e poluição por metais pesados (SHAKYA, 2016; JAMSHIDI-KIA; LORIGOOINI; AMINI-KHOEI, 2018).

Mesmo diante de tantos desafios, é preciso tentar melhorar cada vez mais a qualidade e quantidade de compostos bioativos na busca de novos fármacos a base de plantas. Um exemplo de resultado desses esforços foi a produção de extratos da planta *Phytolacca dodecandra*, conhecidos como *endod*, sendo potentes moluscicida no controle da esquistossomose (SINGH, 2015).

3.5 *Sapium haemospermum*

A espécie *Sapium haemospermum* (L.) Morong é conhecida popularmente como pau-de-leite ou curupi. Pertencente à família Euphorbiaceae, possui cerca de 300 gêneros e aproximadamente 6000 espécies distribuídas em todo o mundo, especialmente nas regiões tropicais das Américas e na África, onde são os maiores centros de dispersão. É uma das principais famílias da flora brasileira, encontrada em floresta ombrófila mista do planalto do sul, desde o sul de Minas Gerais até o Rio Grande do Sul, compondo-se de plantas de hábito bastante variado, como ervas, subarbustos, árvores e trepadeiras (SOUZA; LORENZI, 2005).

É uma árvore inerme, latescente, perenifólia ou caducifólia e sua altura pode atingir cerca de 6 a 12 m de altura. Possui tronco curto, cilíndrico e tortuoso, com casca espessa e rugosa. As folhas são alternas, simples, glabras em ambas as faces, com ápice de 2 a 20 cm de comprimento por 1 a 2 cm de altura, ápice agudo, base aguda, margem crenulada e 1 a 2 glândulas sésseis no pecíolo (SOUZA; LORENZI, 2005; FERREIRA *et al.*, 2009; SEIGLOCH, 2012).

A árvore possui inflorescências apicais e solitárias e sua época de floração acontece de setembro a dezembro e a frutificação nos meses de janeiro a fevereiro. Apresenta dois sistemas laticíferos diferentes, distinguíveis com base na sua estrutura e ontogenia. A madeira é macia, leve, flexível, possui baixa resistência mecânica e pouco durável, serve para caixotaria leve, esculturas, lenha e carvão. O látex é irritante para os olhos e para pele e é usado para

borracha e visgo para captura de insetos. O seu aspecto ornamental recomenda o cultivo em áreas amplas, notadamente em parques (LORENZI, 2005; SEIGLOCH, 2012; DEMARCO, 2013).

Vários estudos evidenciaram características medicinais, visto que a família Euphorbiaceae, a qual pertence, é rica em compostos fenólicos. O gênero *Sapium* é extensamente utilizado na medicina popular para o tratamento dos mais variados tipos de doenças. Investigações fitoquímicas em outras espécies do gênero revelaram compostos fenólicos anti-hipertensivos, ésteres de forbol tóxicos e cucurbitacinas tóxicas. Há um crescente interesse em se estudar as propriedades terapêuticas destas plantas, o que justifica a existência de diversos estudos sobre a atividade biológica do gênero *Sapium* (LORENZI, 2005; FERREIRA *et al.*, 2009; MENDES, 2015)

É importante ressaltar que há uma escassez de estudos relacionados a espécie em si, justificando um amplo trabalho para compreensão da sua atividade biológica e farmacológica. Apesar de tal carência, realizou-se um estudo com o extrato da *S. haemospermum* que mostrou resultados bastantes promissores quanto à inibição do crescimento do *Mycobacterium tuberculosis* (WOLDEMICHAEL, 2004).

4. METODOLOGIA

Realizou-se um estudo experimental de caráter quantitativo, de abordagem indutiva e técnica de documentação direta em laboratório.

4.1 Coleta do material vegetal

A coleta da folha de *S. haematospermum* foi realizada no Parque Flamboyant, situado na cidade de Goiânia- GO/Brasil. As amostras foram identificadas e reconhecidas pelo professor MSc. Carlos de Melo e Silva, mestre em Botânica (Universidade Federal de Goiás, UFG), e, posteriormente, armazenadas na Universidade Evangélica de Goiás – UniEVANGÉLICA.

4.2 Obtenção dos extratos de *S. haematospermum*

A obtenção dos extratos de *S. haematospermum* foi realizada conforme Moraes e colaboradores (2010) com modificações, por se tratar de espécies diferentes de plantas, mas igualmente quanto à marcha analítica. A *S. haematospermum* foi macerada e, após esse processo, armazenada em frasco escuro contendo etanol (proporção 1:4) mantido sob refrigeração. Posteriormente, a amostra foi filtrada e seca com auxílio de rotaevaporador. O extrato resultante foi armazenado em um frasco âmbar ao abrigo da luz, a 4°C (COSTA, 2013).

4.3 Cultivo e manutenção do fungo

Para a realização do cultivo, a cepa de *C. parapsilosis* ATCC (American Type Culture Collection - 22019) foi cultivada em meio ágar Sabouraud dextrose (Peptona 10g/L; Dextrose 40g/L; Ágar 15g/L). A cepa de *C. parapsilosis* ATCC foi mantida em estufa a 36°C por 3 dias e, posteriormente, submetida à experimentação (MENEZES *et al.*, 2012).

4.4 Teste de sensibilidade em placas

Para o teste de sensibilidade em meio sólido, amostras contendo um número de 10^4 células de *C. parapsilosis*, com nove dias de crescimento em 30 mL de ágar Sabouraud dextrose, foram transferidas para novas placas que continham o mesmo meio de cultura somado aos extratos de *S. haematospermum* em diferentes concentrações. As placas foram incubadas por 4 dias a 36°C antes de serem fotografadas, de acordo com Betoni *et al.* (2006) com modificações, por se tratar de espécies diferentes de microrganismos, seguindo-se os preceitos metodológicos, com exceção do tempo de cultivo antes da fotografia (4 dias ao invés de 24 horas).

4.5 Teste de sinergismo

Para o teste de sinergismo, foram preparadas placas-controle contendo os extratos hídricos de *S. haematospermum* (placas-controle negativo), além de placas-controle com fluconazol (placas-controle positivo). As placas de teste, para avaliação da atividade sinérgica entre extratos hídricos de *S. haematospermum* em combinação com fluconazol, foram construídas em triplicatas biológicas, sendo utilizadas as mesmas concentrações dos extratos hídricos, bem como do fluconazol das placas-controle. As placas foram incubadas por 4 dias a 36°C antes de serem fotografadas, segundo Betoni *et al.* (2006) com modificações, por se tratar de espécies diferentes de microrganismos, seguindo a mesma marcha analítica, com exceção do tempo de cultivo antes da fotografia (4 dias ao invés de 24 horas).

4.6 Teste de sensibilidade por disco de difusão

Discos de papel esterilizados (diâmetro de 6 mm) foram embebidos previamente nos extratos obtidos da planta em diferentes concentrações. Posteriormente, foram inoculadas 10^4 células/mL de *C. parapsilosis* em placas de meio ágar Sabouraud dextrose e, em seguida, os discos foram retirados dos tubos com uma pinça esterilizada e colocados sobre as placas contendo o meio. As placas foram incubadas em estufa, a 36°C, por 4 dias, após esse período foram mensurados os halos de inibição do crescimento, em mm, com o auxílio de um paquímetro (BAUER *et al.*, 1966, NCCLS, 2002).

5. RESULTADOS

5.1 Obtenção dos extratos de *S. haematospermum*

Após a secagem, as folhas de *S. haematospermum* foram pulverizadas, pesadas e a porcentagem de rendimento calculada, como mostra a Tabela 1.

Desse modo, para 128 gramas de folha, o percentual de rendimento de extrato foi de 4,57%.

Tabela 1: Obtenção dos extratos de *S. haematospermum*

Espécie	Extrato	Massa (g)	Extrato obtido (g)	Rendimento (%)
<i>S. haematospermum</i>	Folha	128	5,85	4,57

5.2 Teste de sensibilidade em placas

Para avaliação da influência do extrato hídrico da *S. haematospermum* sobre a *C. parapsilosis*, foi realizado o teste de sensibilidade em placas (Figura 1), nas seguintes concentrações: 0,2mg/mL, 0,45mg/mL e 0,9mg/mL.

Levando-se em consideração a placa-controle negativo, os resultados mostram que o crescimento de *C. parapsilosis* não foi inibido de maneira dose dependente por nenhuma das concentrações do extrato hídrico obtido por meio da folha da *S. haematospermum*.

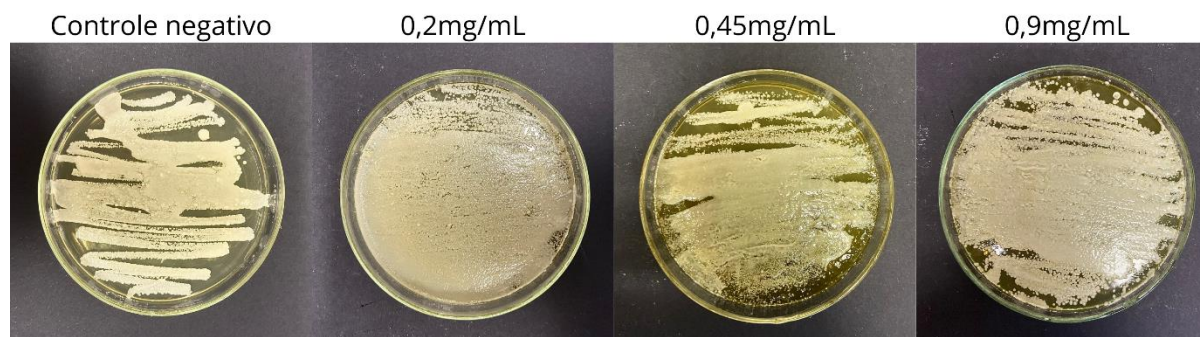


Figura 1. Crescimento de *C. parapsilosis* em ágar Sabouraud dextrose suplementado com extratos hídricos da folha de *S. haematospermum* nas concentrações de 0,2mg/mL, 0,45mg/mL e 0,9mg/mL. Placa-controle negativo contém ágar Sabouraud dextrose e *C. parapsilosis*, sem inibidores. Fonte: Autoria própria.

5.3 Teste de sinergismo

Para o teste de sinergismo, foram preparadas placas-controle contendo fluconazol, na concentração 16µg/mL, e placas com os extratos hídricos de *S. haematospermum* em associação com a droga utilizada.

Quando comparados com as placas-controles, os resultados demonstram presença de atividade sinérgica entre o extrato hídrico de *S. haematospermum* e fluconazol, de modo

que as células de *C. parapsilosis* apresentaram dificuldade de crescimento e constituição da colônia, nas três concentrações apresentadas (Figura 2).

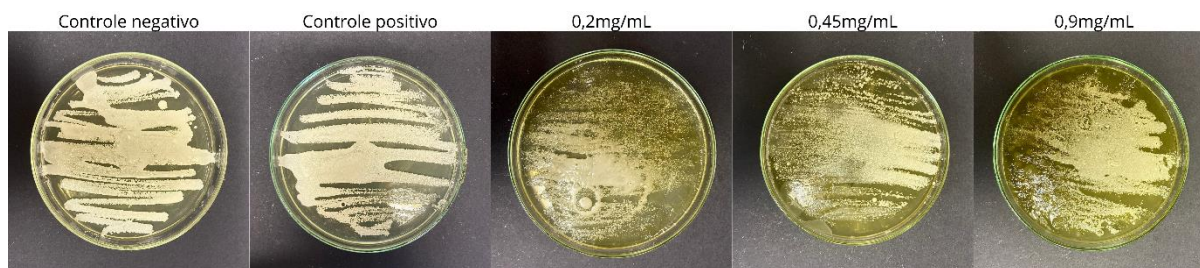


Figura 2. Teste de sinergismo entre extrato hídrico de *S. haematospermum* e fluconazol, nas concentrações de 0,2mg/mL, 0,45mg/mL e 0,9mg/mL. Placa-controle negativo contém ágar Sabouraud dextrose e *C. parapsilosis*, sem inibidores. Placa-controle positivo contém ágar Sabouraud dextrose, *C. parapsilosis* e fluconazol. Fonte: Autoria própria.

5.4 Teste de sensibilidade por disco de difusão

O teste de sensibilidade por disco de difusão foi realizado para avaliar a sensibilidade antifúngica do extrato de *S. haematospermum* sobre *C. parapsilosis*. Os discos de papel filtro foram embebidos no extrato da folha nas seguintes concentrações: 0,2mg/mL, 0,45mg/mL e 0,9mg/mL.

Os halos de inibição do crescimento de *C. parapsilosis* apresentaram as medidas de 0,2mg/mL= 8mm, 0,45mg/mL= 7mm e 0,9mg/mL= 7mm (Figura 3). Levando em consideração os halos de inibição, os resultados mostram que, nas 3 concentrações utilizadas, a *C. parapsilosis* apresentou sensibilidade ao extrato hídrico de *S. haematospermum*.

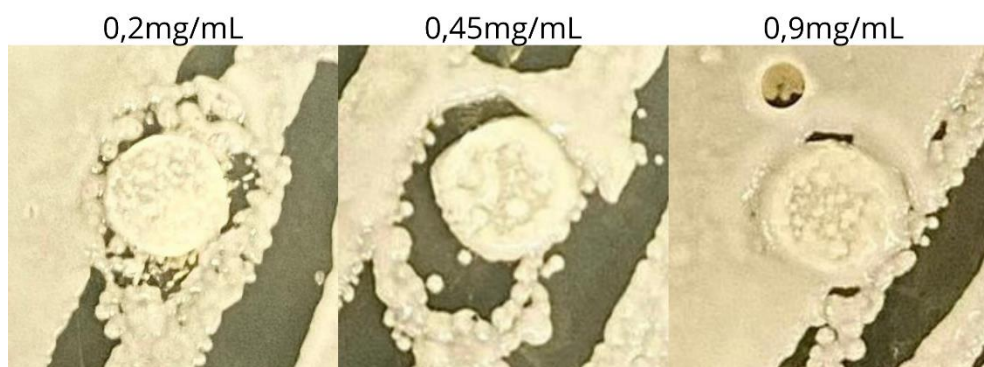


Figura 3. Teste de sensibilidade por disco de difusão entre extrato hídrico de folha da *S. haematospermum* sobre *C. parapsilosis*. Fonte: Autoria própria.

6. DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo mostraram que, no teste de sensibilidade em placas, não houve inibição de *C. parapsilosis*, de maneira dose dependente, por nenhuma das concentrações do extrato hídrico obtido mediante a folha da *S. haematospermum*. No teste de sinergismo, houve dificuldade de crescimento e formação da colônia fúngica nas três concentrações e, no teste de sensibilidade por disco de difusão, a determinação de halos de inibição mostrou sensibilidade da *C. parapsilosis* ao extrato hídrico também nas três concentrações utilizadas. Todos os testes foram realizados utilizando-se o rendimento de 4,57% das folhas de *S. haematospermum*.

O gênero *Sapium* possui diversos compostos com função antibacteriana, anti-inflamatória, antioxidante, anti-hipertensiva, citotóxica, antidiabética e moluscida significativa. Mais especificamente com a *S. haematospermum*, foi realizado um estudo com seu látex, outro possível componente de análise, além do extrato hídrico utilizado no presente trabalho, que provou atividade proteolítica de enzimas responsáveis pela degradação da parede celular dos fungos (MANDON *et al.*, 2006). Tal fato fortalece a hipótese desses compostos também estarem presentes no extrato hídrico, tendo em vista que o crescimento fúngico foi inibido.

Vale ressaltar que a parte da planta selecionada para estudo influencia diretamente no resultado, visto que ainda não se sabe a localização do possível agente antifúngico. Com isso, diferentes partes podem apresentar concentrações distintas de um mesmo metabólito, como mostra Silva *et al.* (2011) em seu estudo, ao encontrar diferentes concentrações de compostos fenólicos no caule e nas folhas de *S. glandulosum*. Assim, a escolha das folhas de *S. haematospermum* para realização deste trabalho foi embasada no estudo de Pacheco *et al.* (2015).

Numerosos estudos retratam o efeito sinérgico entre os compostos das plantas e os antifúngicos tradicionalmente utilizados (PACHECO *et al.*, 2015; KI-HYUN *et al.*, 2014). O estudo de Pacheco *et al.* (2015) mostrou atividade sinérgica na placa contendo o extrato de folha da *Curcuma longa* e anfotericina B, bem como na placa contendo extrato da folha e sulfonamida. Já na placa onde há *C. parapsilosis*, extrato de rizoma da *C. longa* e sulfonamida, os resultados mostraram inibição do crescimento do fungo. A ação sinérgica também foi demonstrada no estudo de Ki-Hyun *et al.* (2014) utilizando extrato da alga *Eisenia bicyclis* juntamente com o fluconazol, o qual comprovou o efeito sinérgico contra a *C. albicans*, fato este, também demonstrado no presente estudo pela ação sinérgica do fluconazol e a *S. haematospermum* contra a *C. parapsilosis*.

Em razão do surgimento de cepas resistentes de fungos e a pequena lista de antifúngicos para o tratamento, utiliza-se a aplicação combinada de antifúngicos para tentar alcançar um possível efeito sinérgico, como exemplo a utilização de fluconazol e anfotericina B associados (Odds, 2003). Entretanto, essa interação potencializa os efeitos adversos. No presente estudo constatou-se uma ação sinérgica entre fluconazol e o extrato hídrico da *S. haematospermum*, tornando viável novas pesquisas para saber quais são os mecanismos de ação dessa interação. Assim, abre-se uma nova oportunidade de tratamento menos tóxica ao organismo humano.

Pelo teste de sensibilidade por disco de difusão, com resultados dos halos: < 9 mm sem atividade, entre 9 e 12 mm pouca atividade e > 18 mm muita atividade, o estudo de Silva *et al.* (2012) mostra que a *S. glandulosum*, planta do mesmo gênero da *S. haematospermum*, apresenta atividade antimicrobiana, inclusive contra cepas resistentes de *Stapylococcus*. Comparativamente ao mesmo teste, no presente estudo, a *C. parapsilosis* apresentou sensibilidade não dose-dependente ao extrato hídrico de *S. haematospermum* nas três concentrações utilizadas. Ou seja, o aumento da concentração, diferente do extrato de *S. glandulosum*, não interfere significativamente no tamanho do halo.

Vários estudos que realizam os mesmos testes experimentais utilizam o extrato obtido somado a alguns solventes orgânicos, como hexano, diclorometano e etanol (Coqueiro, 2006; Pacheco *et al.*, 2015). No entanto, pela qualidade da folha da *S. haematospermum* neste experimento, não foi necessária a utilização desses solventes e, com isso, foram diminuídas as interferências no processo de inibição.

Soro; Valenzuela; Nuñez (2019) demonstraram a presença de fenóis, flavonoides e taninos no extrato etanólico de *S. haematospermum*. Esse perfil fitoquímico é conhecido pela sua atividade antimicrobiana, anti-inflamatória e antifúngica (SILVA *et al.*, 2020). Como são compostos naturais, são menos nocivos ao homem e ao meio ambiente e apresentam potencial para substituir seus semelhantes sintéticos em diferentes condições clínicas (SANTOS *et al.*, 2022).

Mediante o resultado positivo de inibição da *C. parapsilosis* pelo teste de disco de difusão, cabe a realização de futuros testes para a identificação das biomoléculas que deferem essa ação antifúngica. Marques (2014) utilizou microscópio eletrônico de transmissão (MET) e protocolo padrão de Trizol para encontrar moléculas bioativas e sequências de genes para revelar que quercetina e rutina são os compostos bioativos para o controle de mofo branco, causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, em feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris L.*). De modo semelhante, é possível a utilização dessas mesmas técnicas para identificar as moléculas

que causaram o efeito antifúngico da *S. haemospermum* do presente estudo. Pode ser usado, ainda, a técnica de eletroforese em poliacrilamida/gelatina a fim de se identificar a atividade proteolítica de substâncias presentes no extrato hídrico da *S. haemospermum*, assim como foi realizado por Sobottka e colaboradores (2014), que confirmou a atividade proteolítica da *S. glandulosum*.

Para a coleta das folhas da *S. haemospermum* foi necessária sua identificação pelo professor MSc. Carlos de Melo e Silva, mestre em Botânica (Universidade Federal de Goiás, UFG). A falta de conhecimento demográfico de onde se encontra a planta estudada refere certo impasse, sendo necessário que todos os participantes façam um levantamento regional de onde se encontram mais árvores de *S. haemospermum* para posteriores estudos. Ainda, é preciso avaliar se é viável, biologicamente, o plantio da espécie para uma produção em escala de um novo fármaco.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As terapias medicamentosas, para cada tipo de candidíase, são restritas e muitas vezes acompanhadas de algumas interações medicamentosas, de toxicidade e de um alto custo. A infecção por *C. parapsilosis* está relacionada com o aumento da morbimortalidade e, portanto, o presente estudo corrobora para que novos medicamentos sejam testados para auxiliar no tratamento das infecções por *C. parapsilosis*, que vem aumentando, notadamente em ambientes hospitalares.

O presente trabalho analisou a atividade antifúngica de *S. haematospermum* sobre *C. parapsilosis*. Para tal, realizou-se um estudo experimental de caráter quantitativo, realizado em laboratório por meio da preparação dos extratos de *S. haematospermum* e do cultivo e manutenção do fungo da cepa de *C. parapsilosis* em condições específicas.

De acordo com os resultados obtidos, o crescimento de *C. parapsilosis* não foi inibido de maneira dose dependente por nenhuma das concentrações do extrato hídrico obtido por intermédio da folha da *S. haematospermum*, no teste de sensibilidade em placas. Porém, foi visto que existe atividade sinérgica entre o extrato hídrico da planta e fluconazol, de modo que as células de *C. parapsilosis* apresentaram dificuldade de crescimento e constituição da colônia, nas três concentrações apresentadas, no teste de sinergismo. Além disso, o fungo apresentou sensibilidade ao extrato hídrico de *S. haematospermum*, formando halos de inibição, no teste de sensibilidade por discos de difusão.

Conclui-se, portanto, que a *S. haematospermum* apresenta potencial para continuidade de novos estudos que determinem seu perfil fitoquímico, para então elaboração de um novo fármaco antifúngico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARFANIA, D., *et al.* Uncommon causes of peritonitis in patients undergoing peritoneal dialysis. **JAMA**, v. 141, p. 61-64, 1981.

ASHFORD B.K. Certain conditions of the gastro-intestinal tract in Porto Rico and their relation to tropical sprue. **American Journal of Tropical Medicine**, v. 8, p. 507-538, 1928.

BAUER, A. W., *et al.* Antibiotic Susceptibility Testing by a Standartized Single Disc Method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, p. 493-496, 1996.

BETONI, J. E. C., *et al.* Synergism Between Plant Extract and Antimicrobial Drugs Used on *Staphylococcus aureus* diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, p. 387-390, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doenças Infecciosas e Parasitárias Guia de Bolso**. 8 ed. Brasília, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Atenção Integral às Pessoas com Infecções Sexualmente Transmissíveis**. Brasília, 2015.

BRUNTON, L.; PARKER, K. **GOODMAN AND GILMAN: Manual de Farmacologia e Terapêutica**. 12^a ed. Porto Alegre: MCGRAW HILL, 2012.

BUTLER, G., *et al.* Evolutions pathogenicity and sexual reproduction in eight *Candida* genomes. **Nature**, v. 459, p. 657-662, 2009.

CALDERONE, R. A. *Candida* and Candidiasis. **Emerging Infectious Diseases**, v. 8, n. 8, p. 876, 2002.

CARVALHO, P.E.R. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo/PR: **Embrapa Florestas**, 2010. v. 4, 644p.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Candidiasis, 2019. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/fungal/diseases/candidiasis/index.html>>. Acessado em: 14 de setembro de 2020.

COQUEIRO, A. **Estudo químico e avaliação de atividades biológicas da espécie vegetal mabea fistulifera mart. (Euphorbiaceae)**. Dissertação (Mestrado em Química), Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Estadual de Maringá, 2006.

CORREIA, A. F., *et al.* Activity of crude extracts from Brazilian cerrado plants against clinically relevant *Candida* species. **BCM Complementary and Alternative Medicina**, v. 15, n. 203, 2016.

COSTA, F. I. B. **Caracterização e avaliação da atividade antioxidante de farinhas produzidas a partir dos resíduos de Umbu (*Spondias tuberosa* Arruda Cam.) e Maracujá do Mato (*Passiflora cincinnata* Mast.)**. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Desenvolvimento), Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2013.

DEMARCO, D.; CASTRO, M.C.; ASCENSÃO, L. Two laticifer systems in *Sapium haemospermum*- new records for Euphorbiaceae. **Canadian Science Publishing**, v. 91, n. 8, 2013.

FEBRASGO – Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia. **Manual de Orientação Trato Genital Inferior**. São Paulo, 2010.

FERREIRA, B. G. A. *et al.* Metodologias de aplicação de AIB no enraizamento de estacas semilenhosas de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 2, p. 196-201, 2009.

FISHER, B. M., *et al.* Carriage of *Candida* species in the oral cavity in diabetic patients: relationship to glycaemic control. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 16, p. 282-284, 1987.

GÁCSEER, A., *et al.* Virulence of *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* in reconstituted human tissue models. **Fungal Genetics and Biology**, v. 44, p. 1336-1341, 2007.

GAYOSSO, P., *et al.* Candiduria in type 2 diabetes *mellitus* patients and its clinical significance. *Candida* spp. antifungal susceptibility. **Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social**, v. 46, p. 603-610, 2008.

GRACEY, M, *et al.* Isolation of *Candida* species from the gastrointestinal tract in malnourished children. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 27, p. 345-349, 1974.

HE, Q., *et al.* Genus *Sapium* (Euphorbiaceae): A review on traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 277, n. 30, 2021.

HOWLETT, J. A. The infection of rat tongue mucosa in vitro with five species of *Candida*. **Journal of Medical Microbiology**, v. 9, p. 309-316, 1976.

JACYNTO, C. Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia. **Vulvovaginite**. Brasil, 2010. Disponível em: <https://www.jacyntho.com.br/php/artigos/FEBRASGO_2010.pdf>. Acessado em: 14 de setembro de 2020.

JAMSHIDI-KIA, F.; LORIGOOINI, Z.; AMINI-KHOEI, A. Medicinal plants: Past history and future perspective. **J Herbmed Pharmacol**, v.7, n.1, p.1-7, 2018.

JOACHIM, H.; POLAYES, S. Subacute endocarditis and systemic mycosis. **JAMA**, v. 115, p. 205-208, 1940.

KI-HYUN, K., *et al.* Antifungal and synergistic effects of an ethyl acetate extract of the edible brown seaweed *Eisenia bicyclis* against *Candida* species. **Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 17, n. 2, p. 209-214, 2014.

KING, R. D.; LEE, J. C.; MORRIS, A. L. Adherence of *Candida albicans* and other *Candida* species to mucosal epithelial cells. **Infection and Immunity**, v. 27, p. 667-674, 1980.

KLOTZ, S. A., *et al.* Adherence and penetration of vascular endothelium by *Candida* yeasts. **Infection and Immunity**, v. 42, p. 374-384, 1983.

KUHN, D. M., *et al.* Comparison of biofilms formed by *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* on bioprosthetic surfaces. **Infection and Immunity**, v. 70, p. 878-888, 2002.

KUMAMOTO, C. A. *Candida* biofilms. **Current Opinion in Microbiology**, v. 5, p. 608-611, 2002.

LARONE, D. H. Medically Important Fungi: A Guide to Identification. **American Society for Microbiology Press**, p. 409, 2002.

MAGRI, M., Cap 364: *In*: LOPES, A. C. **Tratado de Clínica Médica**. 3 ed. Rio de Janeiro: Roca, p. 6185-6192, 2016.

MANDON, E., *et al.* Estudos fitoquímicos preliminares do látex de *Sapium haemospermum* Müll. Arg. usado na medicina popular. **Química Medicinal Molecular**, v. 11, p. 37-39, 2006.

MANDÓN, E., *et al.* Preliminary phytochemical studies of the latex of *Sapium haemospermum* Mull. Arg. Used in popular medicine. **Molecular Medical Chemistry**, v. 11, p. 37-39, 2006.

MARQUES, J.C. **Compostos ativos de folhas de *Eugenia uniflora* e seus efeitos contra mofo branco causado por *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de feijoeiro**. Dissertação (Pós-Graduação em Biologia) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

MCADAM, A.L.; MILNER, D.A.; SHARPE, A.H. Cap 8. *In*: KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; ASTER, J. C. **Robbins & Cotran Patologia - Bases Patológicas das Doenças**. 9 ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, p. 374, 2015.

MCGINLEY; LARSON E.L.; LEYDEN, J. J. Composition and density of microflora in the subungual space of the hand. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 26, p. 950-953, 1988.

MENDES, D. A.G. B. **Ação anti-inflamatória cutânea de uma planta nativa brasileira: *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax**. Tese (Pós Graduação em Farmacologia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

MENEZES, E. A., *et al.* Identificação molecular e suscetibilidade antifúngica de *Candida parapsilosis* isoladas no Ceará, Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 48, p. 415-420, 2012.

MORAES, T. M. S., *et al.* Antimycobacterial Activity and Alkaloid Prospection of *Psychotria* Species (*Rubiaceae*) from the Brazilian Atlantic Rain forest. **Planta Medica**, v. 77, p. 964-970, 2010.

MORETTI, M.L. Cap. 79. *In*: FOCACCIA, V. **Tratado de Infectologia**. 5 ed. São Paulo: Atheneu, p. 1631-1649, 2015.

MUQARRABUN, L.M.R.; AHMAT, N.; ARIS, S.R.S A review of the medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of the genus *Sapium*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 155, n.1, p. 9-20, 2014.

MURRAY, P.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. Cap. 57. *In: Microbiologia médica*. 8 ed. Elsevier Editora LTDA, p. 569-569, 2017.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twelfth Informational Supplement M100-S12 22**, 2002.

NOSEK, J., *et al.* Biology and genetics of the pathogenic yeast *Candida parapsilosis*. **Current Genetics**, v. 55, p. 497-509, 2009.

ODDS, F. C. Activity of cilofungin (LY121019) against *Candida* species *in vitro*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 22, p. 891-897, 1988.

ODDS, F. C.; BROWN, A. J.; GOW, N. A. Antifungal agents: mechanisms of action. **Trends in Microbiology**, v, 11, n. 6, p. 272-279, 2003.

PACHECO, D.R., *et al.* Avaliação da atividade antifúngica de *Curcuma longa* sobre *Candida parapsilosis*. **Revista Patologia Tropical**, v. 44, n. 3, p. 258-270, 2015.

PAPPAS P.G., *et al.* Guideline for Treatment of Candidiases. **Clinical Infectious Diseases**, v.38, n. 2, p. 161-189, 2004.

PAPPAS, P. G., *et al.* Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiases**, v. 62. n. 4, p. 1-50, 2016.

PRADO, R. S., *et al.* Inhibition of *Paracoccidioides lutzii* Pb01 Isocitrate Lyase by the Natural Compound Argentilactone and Its Semi-Synthetic Derivate. **Plosone**, v. 99, p. 11-13, 2014.

PANAGODA, G. J.; ELLEPOLA, A. N.; SAMARANAYAKE, L. P. Adhesion of *Candida parapsilosis* to epithelial and acrylic surfaces correlates with cell surface hydrophobicity. **Mycoses**, v. 44, p. 29-35, 2001.

RUSSELL, C.; LAY, K. M. Natural history of *Candida* species and yeasts in the oral cavities of infants. **Archives of Oral Biology**, v. 18, p. 957-962, 1973.

ROSEN, R. FRIEDMAN, A. H. Successfully treated postoperative *Candida parakrusei* endophthalmitis. **American Journal of Ophthalmology**, v, 76, p. 574-577, 1973.

SAMARANAYAKE, Y. H.; SAMARANAYAKE, L. P. Fungal infections associated with HIV infection. **Oral Diseases**, v. 8, p. 151-160, 2002.

SANTOS, L.S., *et al.* Phenolic compounds and antifungal activity of ethyl acetate extract and methanolic extract from *Capsicum chinense* Jacq. ripe fruit. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, p. 1-9, 2022.

SANTOS, V. R.; PEREIRA, E. M. R. Antifungal Activity of Brazilian Medicinal Plants against *Candida* Species. In: SANDAI, D. *Candida Albicans*. **IntechOpen**, p. 20-47, 2019.

SEUGLOCH, A.M.; MARCHIORI, J.N.C.; SANTOS, S.R.S. Estudo Anatômico do Lenho de *Sapium haematospermum* Mull. Arg. **Balduina**, v. 30, n. 35, p. 27-32, 2012.

SHAKYA, A. K. Medicinal plants: Future source of new drug. **Internatioal Journal of Herbal Medicine**, v.4, n.4, p.59-64, 2016.

SHEPPARD, D.; LAMPIRIS, H.W. Cap. 48. In: KATZUNG, B.G; MASTERS, S.B.; TREVOR, A. J. **Farmacologia Básica e Clínica**. 13^a ed. Porto Alegre: AMGH Editora, p. 831, 2017.

SILVA, A.V.F., *et al.* Perfil fitoquímico, doseamento de fenóis, taninos, flavonoides totais, atividade antimicrobiana e antioxidante do palmito do pau-cardoso *Cyathea atrovirens*. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 3, p. 1525-1535, 2020.

SILVA, C.H.T.P., *et al.* Antioxidant capacity and phenolic content of *Caesalpinia pyramidalis* Tul. And *Sapium glandulosum* (L.) Morong from Northeastern Brazil. **Molecules**, v. 16, n. 6, p. 4728-39, 2011.

SILVA, C.H.T.P., *et al.* Phytochemical profile and antibacterial activity of bark and leaves of *Caesalpinia pyramidalis* Tul. and *Sapium glandulosum* (L.) Morong. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 6, n. 32, p. 4766-4771, 2012.

SILVA, S., *et al.* Biofilms of non-*Candida albicans* *Candida* species; quantification, structure and matrix composition. **Medical Mycology**, v. 47, p. 681-689, 2009.

SINGH, R. Medicinal plants: A review. **Journal of Plant Sciences**, v.3, n.1-1, p. 50-55, 2015.

SOBOTTKA, A.M., *et al.* Proteinase activity in latex of three plants of the family Euphorbiaceae. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 3, 2014.

SOBOTTKA, A. M., *et al.* Proteinase activity in latex of three plants of the family Euphorbiaceae. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 3, 2014.

SORO, A. D.; VALENZUELA. G.A.; NUÑEZ, M.B. Caracterização fitoquímica e atividade antioxidante da espécie *Sapium haematospermum* Mull. Arg. (Euphorbiaceae) e *Baillonia amabilis* Bocq. (Verbenaceae). **Dominguezia**, v. 35, n. 1, p. 87-92, 2019.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa, SP, **Brasil: Instituto Plantarum de Estudos da Flora**, 2005.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Cap. 12. In: **Microbiologia**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 321-325, 2017.

TROFA D.; GÁCSEER, A.; NOSANCHUK, J. D. *Candida parapsilosis*, na Emerging Fungal Pathogen. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 21, n. 4, p. 606-626, 2008.

VIANNA, Humberto Dias; JACOBI, Ubiratã Soares. Espécies nativas para arborização urbana de municípios da planície costeira do extremo sul do Brasil. **Revista Mundi Meio Ambiente e Agrárias (ISSN: 2525-4790)**, v. 3, n. 2, 2018.

WOLDEMICHAEL, G.M., *et al.* Mycobacterium tuberculosis Growth Inhibition by Constituents of *Sapium haematospermum*. **Jornal of Medical Chemistry**, v. 67, n. 4, 2004.