

AVALIAÇÃO DO EFEITO SINÉRGICO DO EXTRATO DE *CAMPOMANESIA XANTHOCARPA* E ANTIFUNGÍCOS EM NÃO *CANDIDA ALBICANS* DE ISOLADOS CLÍNICOS

Data de submissão: 09/01/2023

Data de aceite: 01/03/2023

Maria Eduarda Conchon Garcia

Pontifícia Universidade Católica do
Paraná, campus Londrina
Londrina – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/8687899591400844>

Julia Hespagnol Gutschow

Pontifícia Universidade Católica do
Paraná, campus Londrina
Londrina – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/5101447861269390>

Aline Tancler Stipp

Pontifícia Universidade Católica do
Paraná, campus Londrina
Londrina – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/8852106033573519>

Campomanesia xanthocarpa. O extrato é popularmente conhecido por reduzir o colesterol sanguíneo o qual se assemelha ao ergosterol presente na membrana fúngica, justificando-se a possibilidade de sinergismo desses elementos. A pesquisa envolve as espécies de *Candida*: *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. glabrata*, sendo culturas positivas de rejeitos do laboratório de Análise Clínica de um Hospital terciário de Londrina. O extrato obtido a partir do método desenvolvido no Laboratório do prof. Dr. Carlos Alberto Mayora Aita, o qual direciona a utilização de extrato aquoso. Os testes de suscetibilidade antifúngica foram determinados por método de microdiluição em caldo, de acordo com as normas do NCCLS M38-A. A partir das concentrações inibitórias mínimas (CIM) dos compostos, determinado pela metodologia na placa de microdiluição incubada por 24 horas e 48 horas a 37°C com duplicata de cada espécie, diferentes concentrações dos medicamentos foram combinados com o extrato da folha de *Campomanesia xanthocarpa*, avaliando-se assim, a interação dos compostos. Concluímos, a partir de leitura visual das placas que a menor concentração do extrato de *Campomanesia xanthocarpa* é

RESUMO: As espécies do gênero *Cândida* representam a maior incidência etiológica de infecções fúngicas adquiridas, além de estarem apresentando resistências a terapêutica que envolve o uso de agentes antifúngicos como o Fluconazol e a Anfotericina B, fator que evidencia um grande desafio para estratégias terapêuticas. O objetivo da seguinte pesquisa compreende a análise do efeito sinérgico entre os antifúngicos mencionados e o extrato proveniente da folha da

capaz e inibir o crescimento fúngico. Sendo assim, foi comprovado que o efeito sinérgico entre antifúngicos e o extrato da planta utilizada na pesquisa pode ser de grande valor para a superação dos desafios de estratégias terapêuticas que visam a cura perante a infecções dos fungos: *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. glabrata*.

PALAVRAS-CHAVE: Antifúngicos, Candida, Sinergismo, Extrato de plantas.

1 | INTRODUÇÃO

As candidemias ainda são infecções frequentes e estão apresentando, nos dias atuais, resistência aos tratamentos tornando-se assim um empecilho para desenvolver estratégias terapêuticas eficientes contra essas infecções. Sendo assim, pesquisas em função de desenvolver novos métodos terapêuticos para a cura das infecções por *Candida sp.* são legítimas e devem ser estimuladas.

O extrato de *Campomanesia xanthocarpa*, segundo relatos populares, apresenta utilização para diversas doenças, incluindo inflamatórias, renais, digestivas, entre outras. Não há na literatura a utilização com efeito microbicidas ou microbiostáticos, porém em estudos realizados por este grupo de pesquisa, obteve-se um desempenho desse extrato na inibição de fungos filamentosos.

Essa pesquisa, então, apresenta requisitos de atividade inventiva, ou seja, a tecnologia não é óbvia para um técnico no assunto e não decorre de maneira evidente, pois foi utilizado o extrato de *Campomanesia xanthocarpa* como antimicótico, meio de uso da planta não antes registrado. Dessa maneira, temos na pesquisa também uma aplicação industrial, pois o extrato da *Campomanesia xanthocarpa* pode ser utilizado em diversos veículos farmacológicos.

2 | OBJETIVOS

Avaliar a ação do extrato de *Campomanesia xanthocarpa* e antifúngicos utilizados na prática médica em espécies de não *Candida albicans* provenientes de isolados clínicos de um hospital terciário da cidade de Londrina – PR.

2.1 Objetivos específicos

- Comparar a ação do extrato de *Campomanesia xanthocarpa* e Fluconazol em *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata* de isolados clínicos.

3 | REVISÃO DE LITERATURA

O gênero *Candida spp.*, espécie leveduriforme, representa um fator significativo na epidemiologia de infecções com caráter oportunista em pacientes hospitalizados (BARBEDO, 2010). Vale ressaltar que a instalação do agente está diretamente relacionada

com a virulência fúngica e competência imunológica do paciente, sendo esta determinante na evolução de cepa comensal para patológica (VIEIRA; SANTOS, 2017). As principais espécies que causam sintomas clínicos de crescimento excessivo mucocutâneo e infecções da corrente sanguínea, caso tenha um déficit no sistema imune (SARDI et al., 2013) e que vamos nos referir nessa pesquisa são: *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. glabrata*.

Essas espécies de *Candida* representam um aumento significativo em causas de infecções fúngicas invasivas (SAHAL; BILKAY, 2018). Ademais, pesquisas recentes demonstram que essas espécies se tornaram cada vez mais resistentes a agentes antifúngicos (DOI et al., 2016).

Candida krusei é o patógeno fúngico para pacientes com neoplasias hematológicas e para receptores de transplantes de sangue e medula óssea. É conhecido pela sua resistência intrínseca ao fluconazol e está ocorrendo relatos da diminuição da suscetibilidade à anfotericina B. A infecção por *C. krusei* ainda permanece relativamente incomum em todo o mundo. Esta precede infecção 70% dos pacientes que apresentam colonização por esse patógeno, sendo assim, seu isolamento é importante para a seleção terapêutica (PFALLER et al., 2008).

Candida tropicalis é a segunda espécie de cândida mais virulenta, por sua formação de biofilmes muito resistentes e outros fatores de virulência incluídos como a adesão de células epiteliais e endoteliais bucais, a secreção de enzimas líticas e a troca fenotípica. Várias investigações recentes relatam resistência à azóis, anfotericina B e equinocandinas. Tem ampla semelhança genética com a *Candida albicans*. A *C. tropicalis* pertence a microbiota normal da pele, trato gastrointestinal e respiratório dos seres humano. Esta levedura está associada com infecções superficiais e sistêmicas, principalmente em pacientes neutropênicos ou em indivíduos que tiveram danos na mucosa gastrointestinal, ou que fizeram o uso de antimicrobianos (ZUZA-ALVES; SILVA-ROCHA; CHAVES, 2017).

A *Candida parapsilosis* é a terceira espécie de cândida mais frequente em isolados de pacientes. Muito associada também com infecções adquiridas em hospitais. É capaz de formar biofilmes em cateteres venosos centrais e outros dispositivos implantados clinicamente. Apesar de apresentar taxa de morbimortalidade mais baixas que outros tipos de cândidas, ela apresenta uma resistência a certos antifúngicos, dificultando a escolha terapêutica para o seu tratamento. Tem como característica marcante a transmissão horizontal (TÓTH et al., 2019).

A *Candida glabrata* é um fungo patógeno oportunista nos seres humanos, que pode causar infecções de mucosa e corrente sanguínea com risco de vida em pacientes com a imunidade comprometida. Ela é capaz de desativar macrófagos, diminuindo a resposta imune inflamatória do hospedeiro em sua infecção, podendo também se replicar intracelularmente. Possui muita semelhança evolutiva com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, do que com a *Candida albicans*. Sua replicação é predominantemente por clonagem (KUMAR et al., 2019).

O tratamento antifúngico principal compreende o uso de triazólicos, como o Fluconazol ou derivados poliênicos, como Anfotericina B (VIEIRA; SANTOS, 2017). O mecanismo de ação desses fármacos envolve a inibição da síntese do ergosterol ou podem ligar-se a sua estrutura desestabilizando a fisiologia da membrana celular fúngica (NOGUEIRA DE CASTRO et al., 2016).

A Anfotericina B, pertencente ao grupo dos poliênicos, atua na membrana celular fúngica, onde há grande afinidade com o ergosterol. Mas também interfere na permeabilidade e em funções de transporte, através de sua habilidade de formar poros na membrana, o que leva a distúrbios de concentração de K⁺. Além disso, usa outras vias de sinalização intracelular para induzir a morte da levedura (VIEIRA; SANTOS, 2017), sendo uma droga de primeira escolha para o tratamento de infecções fúngicas.

A Anfotericina B tem ação pró-inflamatória, estimulando a imunidade inata que é uma resposta inflamatória produzida por linfócitos. Tem interação com TLR-2 (toll-like receptor) e com CD14, causando a liberação de citocinas, quimiocinas e outros compostos com atividade pró- inflamatória. A resistência perante essa droga ocorre quando o fungo tem baixa biossíntese do ergosterol e faz a síntese de esteróis alternativos. Essa droga é aplicada por via endovenosa, quando existe o risco para doença renal, e via inalatória para o tratamento de pneumonia por fungos. Apresenta uma baixa concentração no líquido cefalorraquidiano e para atingir o sistema nervoso central é testada administração intratecal. (THOMPSON; CADENA; PATTERSON, 2009). Tendo a melhor resposta no tratamento de doenças pulmonares, mas em geral é muito indicada para o tratamento de infecção por: *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Blastomyces*, *Candida*, *Histoplasma*, *Zygomycetes*. (ARNOLD et al., 2010).

Os azólicos representam outro grupo de antifúngicos com amplo espectro de atividade, baseados nos núcleos imidazol ou triazol. Esses fármacos atuam na inibição da enzima lanosina-14 α -desmetilase, autora da conversão de lanosterol em ergosterol, fato que afeta a fluidez da membrana e das enzimas presentes. O Fluconazol, representado pelo grupo de triazólicos, alcança grandes concentrações no líquido cefalorraquidiano, como também adquire boas concentrações na saliva, pele, unhas e tecido vaginal (VIEIRA; SANTOS, 2017). A falta de ergosterol aumenta a vulnerabilidade do fungo ao estresse oxidativo fagocítico, sendo assim seu efeito é mais fungistático do que fungicida, pois o fungo pode se replicar, mas não consegue compor parede (THOMPSON; CADENA; PATTERSON, 2009).

Fluconazol possui uma excelente biodisponibilidade, depois de sua administração sua concentração no sangue é de 80% da dose ingerida, e no sistema nervoso central temso 70% da concentração do sangue. 60- 70% é eliminado na urina, por isso a dose deve ser ajustada. Esse medicamento não é ativo contra *Candida krusei* e *Candida glabrata*, mas é ativo contra os outros tipos de *Candidas* como também para: *Cryptococcus* e *Coccidiomyces* (THOMPSON; CADENA; PATTERSON, 2009). Muito indicado para

candidíase de oro-faringe (BARTLETT, 2004) e criptococose causando meningite (KON et al., 2008).

A literatura descreve o uso desses fármacos como eficazes no controle de infecções por candida. Entretanto, o uso contínuo desses medicamentos evidenciou o aumento da resistência fúngica (NOGUEIRA DE CASTRO et al., 2016).

A ameaça de resistência aos antifúngicos em conjunto com a exiguidade do arsenal de medicamentos, assim como os desafios do desenvolvimento de novas drogas contra essas leveduras, devido à natureza eucariótica de fungos e humanos, fazem com que seja de suma importância a exploração de terapias alternativas contra a infecção causada por estes (JAMIU, A. T. et al., 2020).

Já sobre a ação das folhas da planta *Campomanesia xanthocarpa*, sua utilização medicinal é aplicada como adstringente, antidiarreica e através da infusão de suas folhas em banhos de imersão agindo como relaxante para aliviar dores musculares. (Nativas & Cerrado, n.d.).

O extrato de *C. xanthocarpa*, proveniente das folhas da planta guabiroba, é popularmente reconhecido por ocasionar efeito redutor de colesterol sanguíneo (SANT'ANNA, 2012). Nessa perspectiva, pela similaridade funcional do colesterol animal com o ergosterol, presente na membrana fúngica, torna-se válido a análise do sinergismo desses elementos a inibição do desenvolvimento de *Candidas*.

Ao considerar essa linha de raciocínio associada às constatações de resistência dos antifúngicos atualmente utilizados, demonstra-se relevante o estudo sinérgico dos antifúngicos descritos com o extrato de *Campomanesia xanthocarpa* a fim de reduzir a concentração inibitória mínima desses fármacos necessária no combate de *Candidas*.

4 | MATERIAIS E MÉTODO

4.1 procedimentos Éticos

Esse estudo foi realizado com microrganismos de resíduos de culturas positivas após liberação dos respectivos resultados, sendo rejeitos do laboratório de Análises Clínicas de um Hospital terciário de Londrina.

Além disso, os pesquisadores envolvidos se comprometeram a manter confidencialidade sobre os dados coletados, bem como a privacidade de seus conteúdos.

4.2 Amostras

Os isolados foram obtidos de resíduos de um Laboratório Clínicos de um Hospital terciário de Londrina. Foram cultivados e armazenados em sabouraud dextrose, armazenados em glicerol 20% a -20°C; O inóculo foi preparado a partir de um cultivo de Sabouraud dextrose por 48 horas a 37°C; Em seguida uma alíquota de células foram subcultivadas em meio RPMI suplementado com 2% de glicose por 24 horas a 37°C. Posteriormente, com o

auxílio da câmara de Neubauer foi realizado o ajuste de concentração celular em 1×10^7 cel/ml em meio RPMI.

4.3 Extrato de *Campomanesia xanthocarpa*

A elaboração dos extratos pode ser realizada por meio de diferentes técnicas de acordo com as revisões bibliográficas realizadas. Até mesmo para a escolha do solvente ideal há diversos estudos descrevendo a possibilidade de se utilizar clorofórmio, éter, acetona, álcool, n-hexano, metanol e água (RODRIGUEZ-AMAYAM, 2001). O solvente selecionado foi uma solução aquosa, a água remanescente não apresenta propriedades fungicidas e nem fungistática, dessa maneira os futuros resultados não apresentarão viés da propriedade natural dos solventes, permitindo a ação exclusiva dos produtos extraídas da planta.

O extrato aquoso foi preparado a partir de 625 mg das folhas secas de gabioba para 100 mL de água destilada estéril em banho-maria por 72 horas a 37°C, sendo posteriormente filtrado em Syringe Filter 13 mm. Para a determinação das concentrações inibitórias mínimas (CIM) utilizou-se a metodologia na placa de microdiluição incubada por 24 horas e 48 horas a 37°C com duplicata de cada espécie.

4.4 Estudos de suscetibilidade antifúngica e preparação dos antifúngicos

Flu - fluconazol (sozinho), Cx – Extrato de *Campomanesia xanthocarpa* (sozinho). MIC foi definido como a menor concentração que produziu 90% de redução no crescimento de células fúngicas após 24 e 48 horas de incubação. O procedimento foi realizado de acordo com o protocolo CLSI M27-A3. A concentração de fluconazol variou de 0,125 a 64 μ / mL e o a concentração de Extrato de *Campomanesia xanthocarpa* variou de 0,02 a 6,25 mg / mL.

A concentração de fluconazol variou de 0,125 a 64 μ / mL e a de Extrato de *Campomanesia xanthocarpa* variou de 0,02 a 6,25 μ g / mL.

O efeito sinérgico de fluconazol e de Extrato de *Campomanesia xanthocarpa* foi calculado com base no FICI (Índice de Concentração Inibitória Fracionária ($FICI = [FC] / CFS + [Cx] / CxS$), onde [FC] e [Cx] as concentrações de fluconazol e de Extrato de *Campomanesia xanthocarpa* que apresentaram ação quando combinadas, [CFS] e [CxS] são as concentrações dos mesmos fármacos agindo sozinho.

Os dados foram interpretados de acordo com o valor FICI. $FICI \leq 0,5$ -sinergismo (SIN); $0,5 < FICI \leq 4,0$ - indiferença (IND); e $FICI > 4,0$ - antagonismo (ANT).

Nesse projeto, fizemos um controle positivo e um negativo. Onde o positivo é o crescimento do fungo, avaliando se o fungo está viável para a realização do teste. O negativo, é só o extrato e/ou antifúngico sem contaminação do fungo.

5 | RESULTADOS

Os resultados apresentados na Tabela 1 abaixo, são de grande importância para possíveis inovações tecnológicas dentro dos tratamentos já disponíveis para a cura de infecções pelos fungos *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. glabrata*.

A primeira coluna apresentada na tabela é o MIC do Fluconazol, ou seja, a concentração do medicamento que inibe o crescimento dos fungos. A segunda coluna é a concentração utilizada do extrato da planta *Campomanesia xanthocarpa*. A terceira coluna é o sinergismo, o quanto de concentração do fluconazol junto com a concentração do extrato que apresentou inibição do crescimento dos fungos. A quarta coluna é o cálculo do índice de Concentração Inibitória Fracionária (FICI).

Os dados foram interpretados de acordo com o valor de FICI, quando este é $\leq 0,5$ - sinergismo (SIN); $0,5 < FICI \leq 4,0$ - indiferença (IND); e $FICI > 4,0$ - antagonismo (ANT).

Onde tivemos resultados de sinergismo é porque, ou foi possível diminuir a concentração do Fluconazol no tratamento quando este é utilizado junto com o extrato, levando assim a uma melhor toxicidade seletiva (fator protetor para o organismo humano), ou os resultados de erradicação dos fungos no tratamento com sinergismo ocorreram em um período de tempo menor do que o tratamento tradicional.

Essas duas situações, apresentam descobertas muito úteis para novos desenvolvimentos de estratégias terapêuticas para a cura desses fungos que além de não apresentarem muitas alternativas terapêuticas mesmo nos dias de hoje, vêm crescendo os casos de resistências entre essas leveduras que foram estudadas nessa pesquisa.

Amostras	Flucb ($\mu\text{g}/\text{mL}$) MIC90 24h/48h	Cx (mg/mL) b MIC90 24h/48h	Fluc/ Cx Sin MIC90 24h/48h	FICI 24h/48h	Interpretação
<i>Candida parapsilosis</i> (7)	16	1,56	16/0,78	1 + 0,3 1,3	ANT
<i>Candida parapsilosis</i> (9)	16	3,125	8/0,78	0,5 + 0,24 0,74	IND
<i>Candida tropicalis</i> (27)	32	0,39	8/0,09	0,25 + 0,23 0,48	SIN
<i>Candida krusei</i> (43)	32	1,56	8/0,39	0,25 + 0,25 0,5	SIN
<i>Candida tropicalis</i> (39)	64	0,39	32/0,09	0,5 + 0,23 0,7	IND

(FICI = [FC] / CFS + [Cx] / CxS), onde [FC] e [Cx] as concentrações de fluconazol e de Extrato de *Campomanesia xanthocarpa* que apresentaram ação quando combinadas, [CFS] e [CxS] são as concentrações dos mesmos fármacos agindo sozinho.

Tabela 1: Amostras isoladas de sangue - Candidemia.

6 | DISCUSSÃO

O gênero *Candida spp* é um dos principais causadores de infecções com caráter oportunista em pacientes hospitalizados, sendo um fator significativo na epidemiologia de infecções (BARBEDO, 2010). A instalação do agente está diretamente relacionada com a virulências dessas leveduras e a competência imunológica do paciente (VIEIRA; SANTOS, 2017). As *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. glabrata* são espécies de *Candida* que representam um aumento significativo em causas de infecções invasivas nos últimos anos (SAHAL; BILKAY, 2018). E além disso, pesquisas recentes demonstram que essas espécies estão se tornando cada vez mais resistente (DOI et al., 2016) ao tratamento tradicional no qual é utilizado apenas antifúngicos, sendo os mais comuns o Fluconazol e a Anfotericina B.

Vale mencionar também que o arsenal de medicamentos contra essas leveduras é inópia, pois é de grande desafio o desenvolvimento de novas drogas pelo fato de que os fungos apresentam características eucariontes assim como os humanos (JAMIU, A. T. et al., 2020), ou seja, é necessário drogas com maior toxicidade seletiva.

Na pesquisa, analisamos principalmente o efeito sinérgico entre o medicamento Fluconazol que é o mais comumente utilizado para combater infecções fúngicas (VIEIRA; SANTOS, 2017) e o extrato da planta *Campomanesia xanthocarpa*. Este medicamento possui como mecanismo de ação a inibição da síntese de ergosterol, ou pode também ligar-se a estrutura desse composto desestabilizando a fisiologia da membrana celular fúngica (NOGUEIRA DE CASTRO et al., 2016). Já a planta *Campomanesia xanthocarpa* foi escolhida para essa pesquisa por ser utilizada popularmente para reduzir o colesterol sanguíneo (SANT'ANNA, 2012), e este possuir similaridades com o colesterol fúngico mencionado anteriormente, o ergosterol.

Sendo assim, percebemos a necessidade de novas estratégias terapêuticas para combater as infecções causadas por essas leveduras. Durante essa pesquisa empírica, conseguimos coletar dados que foram muito significativos e possivelmente podem levar a diminuição do custo e tempo de tratamento, como também uma melhor toxicidade seletiva no tratamento dessas infecções. De cinco amostras, tivemos duas que já apresentaram resposta positiva à utilização do sinergismo proposto, e apenas uma com reação antagonista.

7 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

A interação entre fluconazol e o extrato da planta *Campomanesia xanthocarpa* apresentou efeito sinérgico com FICI de 0,48 para *Candida tropicalis* (27) e de 0,5 para *Candida krusei* (43). Ou seja, a adição do extrato em conjunto com o fluconazol diminui a concentração inibitória mínima que o fluconazol teria se utilizado isoladamente. Implicando em um possível novo método de tratamento para leveduras resistentes a esse medicamento.

Porém o sinergismo atuou como antagonista com FICI de 1,3 para *Candida*

parapsilosis (7), e foi indiferente na cultura de *Candida parapsilosis* (9) apresentando FICI de 0,74, e para a *Candida tropicalis* (39) com FICI de 0,7.

REFERÊNCIAS

- ARNOLD, T. *et al.* Traditional and emerging antifungal therapies. **Proceedings of the American Thoracic Society**, [S. l.], v. 7, n. 3, p. 222-228, 2010. DOI 10.1513/pats.200906-048AL. Disponível em: <https://www.atsjournals.org/doi/pdf/10.1513/pats.200906-048AL>. Acesso em: 18 maio 2020.
- BARBEDO, Leonardo s. Candidíase. **J Bras Doenças Sex Transm**. Online, p. 22-38. 2010.
- BATAGLION, G. A.; DA SILVA, F. M. A.; EBERLIN, M. N.; KOOLEN, H. F. **Simultaneous quantification of phenolic compounds in buriti fruit (*Mauritia flexuosa* L.f.) by ultrahigh performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry**. *Food Research International*, v. 66, p. 396-400, 2014.
- CHIN, N. X., WEITZMAN, I.; DELLA-LATTA, P. **In vitro activity of fluvastatin, a cholesterol-lowering agente, and synergy with fluconazole and itraconazole agains *Candida* species and *Cryptococcus neoformans***. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. V. 41, n. 4, p. 850-852, 1997.
- DE, C.; PATRICIO, F.; JÚNIOR, A. **INVESTIGAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ITRACONAZOL FRENTE A**. *Journal of Medicine and Health Promotion*, v. 5, n. 2, p. 70–77, 2020.
- DOI, A. *et al.* Epidemiology and Microbiologic Characterization of Nosocomial Candidemia from a Brazilian National Surveillance Program. **PLoS one**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 146 - 909, 2016.
- JAMIU, A. T. *et al.* Update on *Candida krusei*, a potential multidrug-resistant pathogen. **Medical Mycology**, v. 59, n. 1, p. 14–30, 13 maio 2020.
- KON, A. *et al.* Guidelines in cryptococcosis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S. l.], v. 48, n. 5, p. 524-544, 2008.
- KUMAR, K. *et al.* *Candida glabrata* : A Lot More Than Meets the Eye. **Microorganisms**, [S. l.], v. 39, n. 7, p. 1-22, 2019. DOI doi:10.3390/microorganisms7020039. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6407134/pdf/microorganisms-07-00039.pdf>. Acesso em: 18 maio 2020.
- NCCLS. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras; Norma Aprovada—Segunda Edição. NCCLS document M27-A2 [ISBN 1- 56238-469-4]. NCCLS,940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 Estados Unidos, 2002.
- NOGUEIRA DE CASTRO, Issis; ALEXANDRE DE VASCONCELOS JÚNIOR, Antônio; CUNHA, Francisco; *et al.* **Comparação da atividade de antifúngicos imidazólicos e triazólicos frente a *Candida albicans* Activity comparison of imidazole and triazole antifungals against *Candida albicans***. v. 48, n. 3, p. 216– 238, 2016. Disponível em: . Acesso em: 9 Jun. 2021.
- OLIVEIRA, D. Viabilidade econômica de algumas espécies medicinais nativas do cerrado. **Estudos Goiânia**, [S. l.], v. 38, n. 2, p. 301-332, 2011.
- OLIVEIRA FERNANDES *et al.* **Campomanesia adamantium (Myrtaceae) fruits protect HEPG2cells against carbon tetrachloride-induced toxicity**. *Toxicology Reports*,v.2, p.184– 193, 2015.

PFALLER, M. *et al.* *Candida krusei*, a multidrug-resistant opportunistic fungal pathogen: Geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program, 2001 to 2005. **Journal of Clinical Microbiology**, [S. l.], v. 46, n. 2, p. 515-521, 2008. DOI 10.1128/JCM.01915-07. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2238087/>. Acesso em: 18 maio 2020.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. International Life Sciences Institute One Thomas Circle, N.W. Washington, D. C. 20005-5802, 2001, p. 71.

SAHAL, G.; BILKAY, I. Distribution of clinical isolates of *Candida* spp. and antifungal susceptibility of high biofilm-forming *Candida* isolates. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S. l.], v. 51, p. 644-650, 2018.

SANT'ANNA, Liane Santariano. **Efeitos do extrato da *Campomanesia xanthocarpa* sobre parâmetros cardiovasculares em ratos tratados com frutose**. 2012. 71 f. Tese (Doutorado) - Curso de Bioquímica, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, 2012.

SARDI, J. *et al.* *Candida* species: Current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. **Journal of Medical Microbiology**, [S. l.], v. 62, p. 10-24, 2013.

SKALICKA-WOZNIAK, K.; GLOWNIAK, K. **Pressurized liquid extraction of coumarins from fruits of *Heracleum leskowi* with application of solvents with different polarity under increasing temperature**. *Molecules*, v. 17, p. 4133–4141, 2012.

TÓTH, R. *et al.* *Candida parapsilosis*: from Genes to the Bedside. **Clinical Microbiology Reviews**, [S. l.], v. 32, n. 2, p. 1-38, 2019.

THOMPSON, G. *et al.* Overview of Antifungal Agents. **Clinics in Chest Medicine**, [S. l.], v. 30, n. 2, p. 203-215, junho 2009. DOI 10.1016/j.ccm.2009.02.001. Disponível em: [https://www.chestmed.theclinics.com/article/S0272-5231\(09\)00014-8/pdf#.XsJ3Zra7C8s.mendeley](https://www.chestmed.theclinics.com/article/S0272-5231(09)00014-8/pdf#.XsJ3Zra7C8s.mendeley). Acesso em: 18 maio 2020.

VIERA, A.; SANTOS, J. Mecanismos de resistência de *Candida albicans* aos antifúngicos anfotericina B, fluconazol e caspofungina. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, [S. l.], v. 49, n. 3, p. 235-239, 2017.

ZUZA-ALVES, D. *et al.* An update on *Candida tropicalis* based on basic and clinical approaches. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 8, p. 1-25, 2017. DOI 10.3389/fmicb.2017.01927. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5645804/>. Acesso em: 18 maio 2020.