

AVALIAÇÃO DO EFEITO SINÉRGICO DO EXTRATO DE CAMPOMANESIA XANTHOCARPA E ANTIFÚNGICOS EM CANDIDA ALBICANS DE ISOLADOS CLÍNICOS

Data de submissão: 09/01/2023

Data de aceite: 01/03/2023

Julia Hespanhol Gutschow

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

Maria Eduarda Conchon Garcia

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

Giovanna Hespanhol Gutschow

Pontifícia Universidade Católica do
Paraná – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/3727785293787609>

Aline Tancler Stipp

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

RESUMO: A espécie *Candida albicans* representa a maior parte das cepas isoladas em fungemias. O tratamento antifúngico principal compreende o uso de triazólicos, como o Fluconazol que, entretanto, seu uso contínuo evidenciou um aumento na resistência fúngica. Pela similaridade funcional do extrato de *Campomanesia xanthocarpa* com o mecanismo do fluconazol, evidencia-se uma lacuna na

avaliação do sinergismo entre esses elementos. O seguinte trabalho buscou constatar efeito sinérgico do antifúngico Fluconazol com extrato de *Campomanesia xanthocarpa* em *Candida albicans*. Foram obtidas 3 amostras isoladas de sangue de um Laboratório Clínico Hospital terciário de Londrina e os testes suscetibilidade antifúngica foram determinados pelo método de microdiluição em caldo, de acordo com as normas do NCCLSM38-A (NCCLS, 2002). As concentrações inibitórias mínimas (MICs) das drogas antifúngicas foram definidas utilizando em todos os testes RPMI 1640 (sigma-Aldrich), como o meio para testes. A variabilidade de concentração para o fluconazol foi de 0,125 a 64 μ / ml e a de Extrato de *Campomanesia xanthocarpa* de 0,02 a 6,25 μ g / ml. A partir do MIC dos compostos, diferentes concentrações de antifúngicos foram combinados a diferentes concentrações de extrato de *Campomanesia xanthocarpa*. Para avaliar a interação entre ambos compostos, o índice de concentração inibitória fracionária (FICI) foi realizado como descrito por CHIN *et al.*, 1997. Verificou-se a redução do MIC do agente antifúngico para 16 μ g/mL em todas as amostras. O MIC do extrato revelou-se minimizado nas placas 29 e 44 e manteve-

se com o mesmo valor para a amostra 24. A partir dos valores de FICI, a amostra 24 revelou-se antagonista, a 29 encontrou-se indiferente e a 44 demonstrou-se com efeito sinérgico. A associação do agente antifúngico ao extrato vegetal proporcionou redução no MIC em relação ao uso do medicamento de forma isolada. Esse fato possibilita a discussão a respeito de um novo método terapêutico em casos de *C. albicans* com resistividade ao fluconazol.

PALAVRAS-CHAVE: *C. xanthocarpa*. *Candida albicans*. Fluconazol. Resistência.

EVALUATION OF THE SYNERGIC EFFECT OF CAMPOMANESIA XANTHOCARPA EXTRACT AND ANTIFUNGAL ON CANDIDA ALBICANS FROM CLINICAL ISOLATES

ABSTRACT: The species *Candida albicans* represents most of the isolated samples in fungal infections. The main antifungal treatment comprehend the use of triazoles, such as Fluconazole, which, however, its continued use has shown an increase in fungal resistance. Due to the functional similarity of the *Campomanesia xanthocarpa* extract with the mechanism of fluconazole, there is a gap in the evaluation of the synergism between these elements. The following work aimed to verify the synergistic effect of the Fluconazole with *Campomanesia xanthocarpa* extract on *Candida albicans*. Three isolated blood samples were obtained from a clinical laboratory at a hospital in Londrina and the antifungal susceptibility tests were determined by the microdilution method, in accordance with the NCCLS38-A (NCCLS, 2002) standards. The minimum inhibitory concentrations (MICs) of the antifungal drugs were defined in all tests using RPMI 1640 (Sigma-Aldrich). The concentration variability for fluconazole was from 0.125 to 64 µg / ml and 0.02 to 6.25 µg / ml for the *Campomanesia xanthocarpa* Extract. Different concentrations of antifungals were combined with different concentrations of *Campomanesia xanthocarpa* extract. In order to evaluate the interaction between both compounds, the fractional inhibitory concentration index (FICI) was performed as described by CHIN *et al.*, 1997. A reduction in the MIC of the antifungal agent to 16 µg/mL was verified in all samples. The MIC of the extract was minimized in plates 29 and 44 and remained at the same value for sample 24. Based on the FICI values, sample 24 was antagonistic, sample 29 was indifferent and sample 44 demonstrated a synergistic effect. The association of the antifungal agent with the plant extract provided a reduction of the MIC in relation to the use of the medicine alone. This fact makes it relevant to discuss a new therapeutic method in cases of *C. albicans* with resistance to fluconazole.

KEYWORDS: *C. xanthocarpa*. *Candida albicans*. Fluconazole. Resistance.

1 | INTRODUÇÃO

O gênero *Candida spp*, espécie leveduriforme, representa um fator significativo na epidemiologia de infecções com caráter oportunista em pacientes hospitalizados (BARBEDO; SGARBI, 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 (PFALLER; DIEKEMA, 2007).

Nessa esfera, demonstra-se fundamental o reconhecimento da importância clínica de *Candida albicans*, a qual representa a maior parte das cepas isoladas em fungemias, 50%

a 70% dos casos, fator que motivou o estudo (MARTINEZ, 2006). Este patógeno fúngico é usualmente encontrado em diversos sítios anatômicos de indivíduos saudáveis e pode desencadear infecções superficiais ou sistêmicas de acordo com condições ambientais e fisiológicas específicas (DADAR; TIWARI; KARTHIK; CHAKRABORTY; SHAHALI; DHAMA, 2018).

O processo infeccioso decorre do acometimento da região cutâneo-mucosa, o qual pode acarretar seu desenvolvimento sistêmico (MARTINEZ, 2006). 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 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). Nessa perspectiva, a pesquisa propõe 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 *C. albicans*.

O extrato de *Campomanesia 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 *C. albicans*.

2 | OBJETIVOS

Avaliar o efeito sinérgico do antifúngico Fluconazol com extrato de *Campomanesia xanthocarpa* em *Candida albicans*, provenientes de um hospital terciário da cidade de Londrina - PR.

2.1 Objetivos específicos

- Analisar a ação sinérgica do extrato de *Campomanesia xanthocarpa* e Fluconazol em *Candida albicans* através do FICI (índice de concentração inibitória fracionária).

3 | REVISÃO DE LITERATURA

Hodiernamente, reconhece-se que as infecções invasivas de origem etiológica por espécies de *Candida* representam uma gênese consistente na morbimortalidade em saúde. Cerca de 90% dessas patologias são representadas pelos 5 principais agentes

fúngicos dessa espécie: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei* (PAPPAS; KAUFFMAN; ANDES; BENJAMIN; CALANDRA; EDWARDS JR; SOBEL, 2009). Sendo que *C. albicans* representa 46,3%, seguido por *C. glabrata* (24,4%) e *C. parapsilosis* (8,1%) (ANDES; SAFDAR; BADDLEY; ALEXANDER; BRUMBLE; FREIFELD; HADLEY; HERWALDT; KAUFFMAN; LYON, 2016).

Colombo, Nucci, Park, Nouér, Arthington-Skaggs, Matta, Warnock e Morgan (2006) realizaram um estudo em território nacional a respeito da epidemiologia de candidemias em onze hospitais terciários públicos. A pesquisa contou com a avaliação de fatores de incidência, etiologia da espécie de *Candida*, fatores de risco e resistência antifúngica. Para *Candida albicans*, verificou-se a responsabilidade de 40,9% dos casos diagnosticados.

Candida albicans, pertence ao reino fungi, filo Ascomycota; classe Saccharomycetes; ordem Saccharomycetales; família Saccharomycetaceae e gênero *Candida*. Representa o principal grupo leveduriforme a causar infecções de caráter oportunistas em indivíduos imunologicamente comprometidos. Usualmente, *C. albicans* edifica-se em uma relação comensal com o hospedeiro *H. sapiens* e aloja-se predominantemente na microbiota normal do trato gastrointestinal e genitourinário de humanos (PAPPAS; KAUFFMAN; ANDES; CLANCY; MARR; OSTROSKY-ZEICHNER; REBOLI; SCHUSTER; VAZQUEZ; WALSH, 2015).

A levedura é estabelecida em uma disposição diploide com dois pares de oito cromossomos. Caracteriza-se por uma estrutura dimórfica em que pode apresentar-se como levedura ou filamentosa. Reproduz-se na forma de brotamento e, em situações específicas, há a possibilidade de gerar um tubo germinativo e ampliar-se como uma hifa verdadeira ou pseudo-hifa (DIGNANI, 2009).

Os aspectos microbiológicos de *C. albicans* são detalhadamente descritos por Naves, Santana, Ribeiro e Menezes (2013):

[...] morfologia colonial úmida, cremosa e odor específico, de aspecto liso ou rugoso e coloração branco-amarelada em meio de cultura ágar Sabouraud, formação de tubo germinativo, assimilação de carbono e capacidade fermentativa. Seu crescimento é favorecido em temperaturas variando entre 20°C a 38°C. O pH ácido favorece sua proliferação sendo que a faixa ideal de pH varia de 2,5 até 7,5. Microscopicamente as células leveduriformes são de formato esférico, ovóide ou alongado, medem de 3 a 5µm de diâmetro e apresentam-se como Gram-positivas em preparações coradas por esta técnica.

Os principais fatores de risco associados a infecção ativa são a utilização de agentes antibióticos, corticoesteróides ou imunossupressores, disposição de cateterismo venoso, realização de quimioterapia, pacientes neutropênicos ou internados em unidades de terapia intensiva (SERPA, 2011).

A infecção ativa é designada de acordo com o sistema imunológico do paciente em associação a resposta ativa dos tecidos ou órgãos afetados (SCHULZE; SONNENBORN,

2009). Ademais, deve-se considerar o sítio de infecção, a virulência fúngica, além da morfologia e expressão gênica das hifas (DADAR; TIWARI; KARTHIK; CHAKRABORTY; SHAHALI; DHAMA, 2018).

Kashem *et al.* (2015) revela que a manifestação da candidíase mucocutânea crônica (CMC) está associada com a ausência de matrizes inatas das interleucinas IL-17 e IL-22, além da deficiência na imunidade celular Th17 – usualmente ineficiente em pacientes com HIV ou síndrome de hiper IgE. Outra associação observada é a mutação no receptor de lectina do tipo C de reconhecimento dos fungos Dectina-1 (KASHEM; IGYÁRTÓ; GERAMINEJAD; KUMAMOTO; MOHAMMED; JARRETT; DRUMMOND; ZURAWSKI; ZURAWSKI; BERMAN, 2015). Entretanto, constata-se que a *Candida* pode colonizar superficialmente indivíduos imunocompetentes (DADAR; TIWARI; KARTHIK; CHAKRABORTY; SHAHALI; DHAMA, 2018).

As infecções de caráter benigno estão fortemente relacionadas às membranas mucosas da orofaringe e vagina e caracterizam-se por um supercrescimento local. O caráter de maior persistência e extensão patológica é encontrado em pacientes imunocomprometidos. Há a possibilidade de acometimento visceral generalizado em indivíduos com neutropenia ou em unidade de terapia intensiva (UTI) através da disseminação hematogênica (KAUFFMAN, 2021).

Como mencionado, os principais sítios de colonização correspondem às mucosas digestiva e vaginal. Há a certificação de que as formas de transmissão da levedura podem ocorrer ao nascimento ou pelo contato com secreção oral, vaginal ou cutânea. A forma vaginal assintomática é encontrada em aproximadamente 10% das mulheres sexualmente ativas e cerca de 30% das gestantes. Já a colonização do trato gastrointestinal pode ser verificada em 20 a 80% dos indivíduos (POULAIN, 2015).

Outro fator de importante consideração para o sucesso infeccioso de *C. albicans* encontra-se em sua plasticidade: há uma variabilidade em suas populações, células individuais, moléculas e biogênese. Foram verificadas alterações genéticas, fenotípicas, estruturais, na parede celular, na regulação, na remodelação, entre outras (POULAIN, 2015).

Nessa esfera, edifica-se a importância de mencionar os principais fatores de virulência de *C. albicans* descritos na literatura: “[...] secreção de enzimas hidrolíticas, expressão de adesinas e invasinas, tigmotropismo, bomba de efluxo, formação de biofilme e morfologia celular” (ROCHA; NUNES; NEVES; XIMENES; ALBUQUERQUE, 2021).

Ademais, vale ressaltar que a virulência fúngica pode variar de acordo com a região acometida devido a diferenças fisiológicas e estruturais de microambiente (PARK; LIU; SOLIS; SPOTKOV; HAMAKER; BLANKENSHIP; YEAMAN; MITCHELL; LIU; FILLER, 2009).

O quadro clínico verificado na candidíase apresenta relação direta com a forma manifestada: cutâneo-mucosa, invasiva ou sistêmica. Essas manifestações são retratadas

por Vieira e Santos (2017):

A candidíase cutâneo-mucosa consiste em manifestações superficiais, apresentando as seguintes formas: candidíase intertriginosa, onicomicose, candidíase oral, vulvovaginite, balanopostite e candidíase cutâneo-mucosa crônica. Já a candidíase invasiva ou sistêmica caracteriza-se por apresentar infecções profundas ou invasivas, podendo localizar-se em um órgão ou disseminar-se via sanguínea (candidemia). Apresentam-se como quadros de sintomatologia cardíaca, digestiva, respiratória, hepática, renal, ocular, do sistema nervoso central, ou disseminada, que é uma forma clínica de difícil tratamento.

Já as formas infecciosas mais invasivas, são representadas por uma maior taxa de mortalidade e internações extensas. Esses casos necessitam de um diagnóstico precoce e início da terapêutica com antifúngicos (VIEIRA; SANTOS, 2017).

Outros achados clínicos evidentes correspondem a:

[...] candidíase oral-faríngea (aftas) ou vaginal ou cervical; lesões intertriginosas das dobras glúteas, nádegas, pescoço, virilha e axila; paroníquia; e oníquia. Disfunção de linfócitos T, outros distúrbios imunológicos e doenças endocrinológicas estão associados à candidíase mucocutânea crônica (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2021).

Quanto ao diagnóstico, o padrão-ouro corresponde a presença de uma hemocultura positiva para *C. albicans*. Nos casos em que há lesões focais, pode-se fazer a biópsia para coloração, cultura e análise histopatológica (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2021).

Há reconhecimento na literatura dos benefícios da introdução precoce da terapia empírica antifúngica para a redução da morbimortalidade e do período de internação. Em pacientes com fatores de risco para a doença invasiva e outras causas de febre descartadas, deve-se iniciar a terapêutica (GEHRING, 2015).

Os princípios do tratamento de candidíase invasiva incluem o manejo de triazólicos – como o fluconazol – em indivíduos com quadro leve a moderado sem neutropenia. Já nos casos mais graves, normalmente recomenda-se derivados de poliênicos como a anfotericina B (PAPPAS; KAUFFMAN; ANDES; CLANCY; MARR; OSTROSKY-ZEICHNER; REBOLI; SCHUSTER; VAZQUEZ; WALSH, 2015).

O fluconazol, pertencente da família dos triazólicos, é um fármaco bem tolerado, de alta biodisponibilidade e apresenta boa atividade clínica contra patógenos tais como *Cryptococcus neoformans* e a maioria das *Candida spp.* isoladas. O mecanismo de ação consiste na inibição da enzima fúngica lanosterina-14 α -desmetilase, a qual realiza a conversão de lanosterol em ergosterol. A supressão dessa atividade altera a fluidez da membrana fúngica e de suas enzimas ligadas (RANG; DALE, 2016).

Esse fármaco, após sua administração oral, atinge elevadas concentrações no líquido cefalorraquidiano e concentrações consideráveis plasmáticas, na saliva, pele, unhas e tecido vaginal. Os efeitos adversos observados em alguns pacientes são náuseas, vômito,

dor abdominal, diarreia, cefaleia, elevação transitória de enzimas hepáticas, alopecia, prurido, *rash*, plaquetopenia, leucopenia, anafilaxia e alongamento do intervalo QT. A dose diária recomendada depende da região acometida pelo agente fúngico (BRUNTON; GILMAN, 2012).

O metabolismo do fluconazol é hepático, apresenta meia-vida de 30 horas e sua excreção é renal e predominantemente em forma ativa, apenas 11% de metabólitos. Vale ressaltar que sua absorção independe de alimentos ou ácidos presentes e em uma a duas horas atinge sua concentração plasmática máxima (RANG; DALE, 2016).

As limitações mais evidentes no uso desse medicamento seriam em sua baixa eficácia na atividade contra fungos filamentosos, além da aquisição de resistência no uso a longo prazo (RANG; DALE, 2016). Há evidências na literatura que indicam a identificação de potenciais alvos de drogas ou substâncias as quais possam elevar o efeito do fluconazol e, assim, elevar sua eficácia (LU; SHRIVASTAVA; WHITEWAY; JIANG, 2021).

Vale-Silva, Coste, Ischer, Parker, Kelly, Pinto e Sanglard (2012) revelam a existência de cerca de cinco mutações que culminam em resistividade ao fármaco fluconazol. Destacam-se as mutações nos genes ERG3 (resulta em falha na biossíntese de ergosterol), ERG11 (reduz ligação ao antifúngico). Além das alterações nos genes MRR1, TAC1, UPC2 que resultam em um fator de transcrição hiperativo.

A anfotericina B está incluída no grupo dos poliênicos – forte avides ao ergosterol - e sua principal indicação é associada às formas graves da candidíase invasiva. O seu mecanismo ativo mais reconhecido é a estruturação de canais iônicos que se assemelham a proteínas na membrana celular fúngica através de sua interação com o ergosterol. Esse fato leva a distúrbios no equilíbrio dos íons e perda de potássio extracelular (CHUDZIK; KOSELSKI; CZURYIO; TREBACZ; GAGOS, 2015).

Outro mecanismo reconhecido edifica-se no uso das vias de sinalização intracelulares da levedura culminando em sua morte (RANG; DALE, 2016). Os principais efeitos indesejáveis identificados no uso de anfotericina B estão em seu potencial nefrotóxico, nas reações agudas infusionais, trombocitopenia, hiperbilirrubinemia, distúrbios eletrolíticos, cefaleia, tremores, hipertensão, dispneia, entre outros (FALCI; PASQUALOTTO, 2015).

Após a definição da terapia antifúngica de escolha, deve-se considerar a possibilidade de resistência da *Candida albicans*. A falha na terapêutica pode decorrer de resistência desenvolvida ao longo do tratamento ou resistência clínica. A resistividade clínica usualmente está associada a pacientes com neutropenia, imunodeficiência, estados infecciosos de tecidos com baixa vascularização, baixa adesão ao tratamento, estruturação de biofilme em prótese e cateteres, entre outros (ARTHINGTON-SKAGGS; REX, 2008).

Quanto ao caráter microbiológico, pode-se constatar as mutações em fatores de transcrição. Uma vez que tais patógenos não realizam a recombinação sexual, verifica-se constantes mutações e recombinações mitóticas, sendo que o mecanismo permeado por bombas de efluxo é um dos mais evidentes (FORD; FUNT; ABBEY; ISSI; GUIDUCCI; A

MARTINEZ; DELOREY; LI; WHITE; CUOMO, 2015).

Os principais mecanismos de resistência a classe dos azóis são descritos por Rocha, Nunes, Neves, Ximenes e Albuquerque (2021):

Os mecanismos atribuídos a resistência aos azóis tanto em *C. albicans* como espécies *Candida não-albicans* estão bem definidos e estão associados principalmente a expressão aumentada da bomba de efluxo de drogas, a maior expressão e modificação na estrutura de sítios alvos, além da formação de biofilme. Esses mecanismos podem ocorrer isolados ou em conjunto, sendo que a expressão aumentada da bomba de efluxo de drogas é relatada como a causa primária da resistência aos azóis em espécies de *Candida*.

Outros métodos identificados são a mutação ou superexpressão do gene ERG11, mutação do gene ERG3, ação do RTA2 na regulação positiva de calcineurina – fosfatase que atua na sinalização da célula fúngica. Ademais, destaca-se a ação da proteína Hsp90 e das histonas desacetilases (HDACs) na expressão de determinados genes relacionados a proteínas transportadoras das bombas de efluxo. As enzimas antioxidantes fúngicas também devem ser consideradas ao interferirem no estresse oxidativo provocado por azóis (VIEIRA; SANTOS, 2017).

Em relação a anfotericina B:

Os mecanismos envolvidos em aumento de resistência à anfotericina B resultam de alterações na composição da membrana plasmática fúngica, alterações quantitativas de esfingolipídeos na membrana com diminuição da formação de ergosterol e funcionamento incorreto de bombas de efluxo, mutação do gene ERG3, que leva à formação de esteróis com menor afinidade de ligação da anfotericina B e superexpressão de bombas de efluxo (VIEIRA; SANTOS, 2017).

Em suma, ratifica-se a adversidade no campo da saúde que o surgimento de novas cepas, espécies e métodos de resistividade representam no acometimento grave de pacientes intratáveis e no desenvolvimento de prognóstico ruim (ROCHA; NUNES; NEVES; XIMENES; ALBUQUERQUE, 2021). Dessa forma, os métodos antifúngicos disponíveis necessitam de atualizações e, segundo Lu, Shrivastava, Whiteway, Jiang (2021) deve-se averiguar alvos de drogas ou substâncias específicas que possam aumentar a eficácia dos antifúngicos já utilizados na prática clínica.

A *Campomanesia xanthocarpa*, conhecida como gabirola, guabirola, guabirola-miúda e guabirola-do-mato, é utilizada popularmente para o tratamento anti-inflamatório. Trata-se de uma árvore frutífera da família Myrtaceae a qual é comumente encontrada no cerrado brasileiro, possui entre 10 a 20 metros de altura e seus frutos apresentam importância econômica (VALLILO; MORENO; OLIVEIRA; LAMARDO; GARBELOTTI, 2008).

Na medicina popular o uso de *C. xanthocarpa* é reconhecido por seus efeitos anti-inflamatórios, tratamento de doenças renais, do trato gastrointestinal, reumatológicas e hipercolesterolemia (SANT'ANNA; MERLUGO; EHLE; LIMBERGER; FERNANDES;

SANTOS; MENDES; PAULA; MOREIRA, 2017). Outrossim, verifica-se o uso empírico no controle da obesidade e perda de peso (DICKEL; PREÇOS; RITTER, 2007).

Sant'anna *et al* (2017) constatou outras características práticas do extrato:

[...] o extrato de *C. xanthocarpa* apresenta potencial mutagênico, efeitos sinérgicos que resultam em atividade comutagênica, possui atividades antiproliferativa e genotóxica utilizando o *Allium cepa* in vivoteste de células da ponta da raiz e um aumento na frequência de aberrações cromossômicas, tem atividades antiplaquetárias, antitrombóticas e fibrinolíticas, pode ser eficaz na prevenção da formação de trombos por várias vias, reduzindo os níveis de colesterol no sangue, tem um efeito gastroprotetor, e reduz o estresse oxidativo e processos inflamatórios; pode, portanto, ter aplicações terapêuticas.

A composição química das folhas do extrato revela a existência de flavonóides, sapopinas, taninos e terpenos, substâncias as quais são ativos biológicos naturais e apresentam potencial fisiológico em seres humanos (SANT'ANNA; MERLUGO; EHLE; LIMBERGER; FERNANDES; SANTOS; MENDES; PAULA; MOREIRA, 2017).Parte superior do formulárioParte inferior do formulário

Na literatura, constata-se inúmeros estudos a respeito do uso de extratos de *Campomanesia xanthocarpa* para finalidades terapêuticas. O seu efeito sobre pacientes com hipercolesterolemia foi representado através de importante redução nos níveis totais de LDL em pacientes que receberam uma quantidade de 500 mg do extrato aquoso. Outras funções aferidas foram:

[...] redução de estresse oxidativo e de componentes do processo inflamatório (proteína C reativa de alta sensibilidade - PCR-AS) e um aumento significativo de NO em indivíduos hipercolesterolêmicos que receberam 1000 mg do extrato aquoso de *C. xanthocarpa*, quando comparados ao grupo controle (MENDES, 2018).

A atividade antitrombótica e fibrinolítica foi estudada por Klafke, Silva, Rossato, Trevisan, Walker, Leal, Borges, Schetinger, Moresco, Duarte, Santos, Viecili, Ferreira (2012) através da administração de ácido acetilsalicílico ou extrato aquoso de guabiroba em camundongos pelo período de 5 dias. Foi observado inibição de agregação de plaquetas com ausência de citotoxicidade, ação fibrinolítica e prolongamento do TTPa.

O mecanismo de redução do processo inflamatório foi visto Klafke, Pereira, Hirsch, Parisi, Porto, Almeida, Rubin, Schmidt, Beutler, Nascimento, Trevisan, Brusco, Oliveira, Duarte, Duarte, Viecili (2016) através do uso do extrato aquoso em camundongos por 4 semanas. Houve aumento de fatores anti-inflamatórios como a interleucina 10 associada a minimização de marcadores pró-inflamatórios (IL-1, IL-6, TNF-a e INF-y).

Especificamente para espécies de *Candida*, o óleo essencial da guabiroba foi identificado como potencial antimicrobiano ao representar atividade antifúngica para as amostras desses fungos (CAVALCANTI, 2012).

Dessa forma, em alicerce com os elementos encontrados na base de dados,

identifica-se a necessidade de novas pesquisas que associem o extrato vegetal em sua forma aquosa às espécies de *Candida*, em especial, *Candida albicans* devido a sua alta ocorrência e virulência.

4 | MATERIAIS E MÉTODO

4.1 Procedimentos éticos

Este estudo está sendo 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 comprometem a manter a confidencialidade sobre os dados coletados, bem como a privacidade de seus conteúdos.

4.2 Amostras

Os isolados foram obtidos de resíduos de um Laboratório Clínico Hospital terciário de Londrina.

4.3 Estudo de suscetibilidade antifúngica e preparação dos antifúngicos

Os testes suscetibilidade antifúngica foram determinados pelo método de microdiluição em caldo, de acordo com as normas do NCCLSM38-A (NCCLS, 2002).

Os MICs das drogas antifúngicas foram determinados utilizando em todos os testes RPMI 1640 (sigma-Aldrich), como o meio para testes. A variabilidade de concentração para o fluconazol foi de 0,125 a 64 μ / mL e a de Extrato de *Campomanesia xanthocarpa* de 0,02 a 6,25 μ g / mL.

As preparações das diluições antifúngicas foram feitas segundo o CLSI M27 A2.

A técnica de microdiluição em caldo é a indicada pela normativa aprovada CLSI M27 A2, para determinação de MIC do antifúngico, e foi utilizada para a execução deste trabalho.

4.4 Extrato de folhas da *Campomanesia xanthocarpa*

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 (MIC) utilizou-se a metodologia na placa de microdiluição incubada por 24 horas e 48 horas a 37°C com duplicata de cada espécie.

As concentrações inibitórias mínimas (MIC) foram determinadas por leitura visual das placas, sendo definida como a menor concentração do extrato de *Campomanesia xanthocarpa* capaz de inibir o crescimento.

4.5 Teste de Sinergismo

A partir do MIC dos compostos, diferentes concentrações de antifúngicos foram combinados a diferentes concentrações de extrato de *Campomanesia xanthocarpa*. Para avaliar a interação entre ambos compostos, o índice de concentração inibitória fracionária (FICI) foi realizado como descrito por CHIN et al., 1997.

$$FICI = [FC] / [FCS] + [Cx] / [CxS]$$

Na representação do cálculo do FICI mencionado, [FC] corresponde ao MIC verificado para o fluconazol em sinergismo, [FCS] refere-se ao MIC do fluconazol isolado. [Cx] está associado ao MIC da *Campomanesia xanthocarpa* em sinergismo e [CxS] é verificado quando o extrato é utilizado 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).

5 | RESULTADOS

Os resultados obtidos através da realização da metodologia mencionada anteriormente são descritos na seguinte tabela:

Amostras	Flucb (μ g/mL) MIC90 24h/48h	Cx(mg/mL) b MIC90 24h/48h	Fluc / Cx Sin MIC90 24h/48h	FICI 24h/48h	Interpretação
<i>Candida albicans</i> (24)	32	0,04	16/ 0,04	0,5 + 1 1,5	ANT
<i>Candida albicans</i> (29)	64	0,78	16/ 0,39	0,25 + 0,5 0,75	IND
<i>Candida albicans</i> (44)	64	0,78	16/ 0,09	0,25 + 0,11 0,36	SIN

Flu - fluconazol (sozinho), Cx – Extrato de *Campomanesia xanthocarpa* (sozinho).

Tabela 1: Amostras isoladas de sangue – Candidemia

Como mencionado, o MIC foi determinado 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 a de Extrato de *Campomanesia xanthocarpa* variou de 0,02 a 6,25 μ g / mL.

Ademais, o sinergismo de fluconazol e de Extrato de *Campomanesia xanthocarpa* foi constatado através do cálculo do FICI (Índice de Concentração Inibitória Fracionária).

Quanto aos efeitos do fluconazol sob *Candida albicans*, observou-se a amostra 24 com um MIC de 32 $\mu\text{g/ml}$, fato que a confere uma classificação de sensibilidade dose-dependente. Já as amostras 29 e 44 revelaram-se resistentes ao fluconazol com a determinação do MIC de 64 $\mu\text{g/mL}$. Outrossim, mostra-se válido mencionar que as placas 29 e 44 são sensíveis a uma concentração de 0,78 mg/ml do extrato de *Campomanesia xanthocarpa*, já a amostra 24 sensibilizou-se com um MIC de 0,04 mg/ml.

Em relação aos MICs necessários à minimização do crescimento de células de *C. albicans* quando no sinergismo de fluconazol + extrato de *C. xanthocarpa*, verificou-se a redução do MIC do agente antifúngico para 16 $\mu\text{g/mL}$ em todas as amostras. O MIC do extrato revelou-se minimizado nas placas 29 e 44 e manteve-se com o mesmo valor para a amostra 24.

O FICI obtido para cada amostra foi interpretado da seguinte forma: $\text{FICI} \leq 0,5$ -sinergismo (SIN); $0,5 < \text{FICI} \leq 4,0$ - indiferença (IND); e $\text{FICI} > 4,0$ - antagonismo (ANT). Nesse sentido, a amostra 24 revelou-se antagonista, a 29 encontrou-se indiferente e a 44 demonstrou-se com efeito sinérgico.

6 | DISCUSSÃO

A espécie *Candida albicans* é reconhecida por seu elevado potencial patogênico em seres humanos. O agente fúngico é responsável por cerca de 50% a 70% das fungemias (MARTINEZ, 2006). As infecções sistêmicas por essa etiologia revelam imensa relevância clínica devido aos importantes índices de morbimortalidade (10 a 49%), longos períodos de internações (até 30 dias) e altos custos ao sistema de saúde – cerca de um bilhão de dólares no EUA (WILLE; GUIMARAES; FURTADO; COLOMBO, 2013); (NUNES; NUNES; MONTEIRO; PAES, 2011).

Outrossim, o potencial de patogenicidade de *C. albicans* revela-se extenso. Dessa forma, a capacidade de aderência, infecção e de causar complicações é evidente e está diretamente associado aos diversos fatores de virulência apresentados: “aderência, polimorfismo, variabilidade fenotípica, produção de enzimas extracelulares e toxinas” (SANTANA; RIBEIRO; MENEZES; NAVES, 2013).

Como mencionado, pacientes com fungemias de origem etiológica em *C. albicans* são usualmente tratados com compostos azólicos como o fluconazol. Entretanto, o uso imoderado de agentes antifúngicos tópicos ou sistêmicos desencadeou o desenvolvimento de resistividade antifúngica (JORDÃO, 2019). Atualmente, a resistência de *C. albicans* ao fluconazol aproxima-se do percentual de 3%, valor que pode alterar-se devido a variações regionais (QUINTERO, 2010).

Mediante esse fato, verifica-se como primordial a atualização dos métodos

antifúngicos viáveis na atualidade. Estudos recentes apontam a necessidade da busca de alvos específicos de substâncias as quais possam potencializar a eficácia desses fármacos (LU; SHRIVASTAVA; WHITEWAY; JIANG, 2021).

Nessa linha de raciocínio, inúmeras produções científicas sugerem o uso de extratos naturais como o da *C. xanthocarpa* com a finalidade de minimizar a toxicidades desses agentes farmacológicos e seus efeitos adversos. Cavalcanti (2012) revelou em seu artigo científico:

[...] esta é a primeira investigação a respeito da atividade do óleo essencial de *X. brasiliensis* e *C.xanthocarpa* frente as leveduras *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei*, sendo observado seu efeito inibitório. A formação de halos de inibição superiores a 9,0 mm e 18 mm, respectivamente para *X. brasiliensis* e *C. xanthocarpa*, indica a necessidade mais estudos que possam confirmar a atividade inibitória desses extratos vegetais.

Apesar de sua atividade antifúngica verificada contra espécies de *Candida*, verificou-se na literatura que o óleo essencial das folhas de *C. xanthocarpa* demonstrou “[...] baixa atividade antifúngica frente às cepas de *A. flavus* e *C. Gloeosporioides*, portanto, sugerimos novos estudos com diferentes micro-organismos” (OLIVEIRA, 2018).

Em um segundo momento, verifica-se na literatura que o extrato em sua forma hidroetanólica promoveu atividade anti-inflamatória no sentido em que inibiu edema e reduziu migração de leucócitos e extravasamento de proteínas para a pleura em uma situação de pleurite (DA SILVA; SALMAZZO; ARRIGO; OLIVEIRA; KASSUYA; CARDOSO, 2016).

Os efeitos do extrato sobre as dislipidemias também são reconhecidos. Verificou-se a redução dos níveis de LDL em indivíduos dislipidêmicos durante o manejo de 500 mg de extrato aquoso de *C. xanthocarpa* (VIECILI; BORGES; KIRSTEN; MALHEIROS; VIECILI; MELO; TREVISAN; SILVA; BOCHI; MORESCO; KLAFKE, 2014).

Diante dessas abordagens, a seguinte investigação científica propõe o uso de extrato aquoso das folhas de guabiroba para a verificação de atividade sinérgica com o antifúngico fluconazol. Devido a similaridade química do colesterol sanguíneo com o ergosterol presente na membrana fúngica, motiva-se a averiguação da possibilidade terapêutica do uso do extrato.

A partir dos resultados constatados, averiguou-se que as amostras de *C. albicans* apresentaram um MIC importante ao fármaco fluconazol, recebendo as classificações de sensibilidade dose-dependente ou de resistentes. Quando em associação ao extrato de *C. xanthocarpa*, identifica-se uma importante queda no MIC e o efeito sinérgico pode ser certificado na amostra 44 de *C. albicans*.

Essa pesquisa apresenta contribuições à comunidade científica no sentido de propor uma nova perspectiva sobre a associação de extratos vegetais – no caso, o da guabiroba – com tratamentos clássicos por agentes antifúngicos. Nessa esfera, permite-se a discussão

a respeito do manejo nos casos de fungemias resistentes com o fim último de reduzir as doses farmacológicas já utilizadas e, conseqüentemente, minimizar os efeitos adversos usualmente constatados.

7 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

A associação entre o extrato de *Campomanesia xanthocarpa* e o fármaco fluconazol demonstrou o efeito de sinergismo com o FICI de 0,36 para a amostra 44 de *Candida albicans*. Nesse sentido, a associação do agente antifúngico ao extrato vegetal proporcionou redução na concentração inibitória mínima em relação ao uso do medicamento de forma isolada. Esse fato possibilita a discussão a respeito de um novo método terapêutico em casos de *C. albicans* com resistividade ao fluconazol.

REFERÊNCIAS

- AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. **Red Book: 2021–2024 Report of the Committee on Infectious Diseases**: Candidiasis. 32. ed. [S.L.]: Red Book: 2021–2024, 2021. Disponível em: <https://redbook.solutions.aap.org/chapter.aspx?sectionid=247326811&bookid=2591>. Acesso em: 10 abr. 2021.
- ANDES, David R.; SAFDAR, Nasia; BADDLEY, John W.; ALEXANDER, Barbara; BRUMBLE, Lisa; FREIFELD, Allison; HADLEY, Susan; HERWALDT, Loreen; KAUFFMAN, Carol; LYON, G. Marshall. The epidemiology and outcomes of invasive *Candida* infections among organ transplant recipients in the United States: results of the transplant-associated infection surveillance network (transnet). **Transplant Infectious Disease**, [S.L.], v. 18, n. 6, p. 921-931, 14 nov. 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/tid.12613>.
- ARTHINGTON-SKAGGS, Beth A.; REX, John H.. Resistance to Antifungal Agents. **Antimicrobial Resistance And Implications For The Twenty-First Century**, [S.L.], p. 325-369, 2008. Springer US. http://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-72418-8_10.
- BARBEDO, Leonardo s. Candidíase. **J Bras Doenças Sex Transm**. Online, p. 22-38. 2010.
- BRUNTON, L.L.; GILMAN. Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 12. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2012.
- CAVALCANTI, Yuri Wanderley. Atividade Antifúngica de Extratos Vegetais Brasileiros sobre Cepas de *Candida*. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, [S.L.], v. 16, n. 1, p. 43-48, 1 mar. 2012. Portal de Periodicos UFPB. <http://dx.doi.org/10.4034/rbcs.2012.16.01.07>.
- CHIN, N. X., WEITZMAN, I.; DELLA-LATTA, P. **In vitro activity of fluvastatin, a cholesterol-lowering agente, and synergy with fluconazole and itraconazole against Candida species and Cryptococcus neoformas**. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. V. 41, n. 4, p. 850-852, 1997.
- CHUDZIK, Barbara; KOSELSKI, Mateusz; CZURYJO, Aleksandra; TRĘBACZ, Kazimierz; GAGOŚ, Mariusz. A new look at the antibiotic amphotericin B effect on *Candida albicans* plasma membrane permeability and cell viability functions. **European Biophysics Journal**, [S.L.], v. 44, n. 1-2, p. 77-90, 4 jan. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00249-014-1003-8>.

COLOMBO, Arnaldo L.; NUCCI, Marcio; PARK, Benjamin J.; NOUÉR, Simone A.; ARTHINGTON-SKAGGS, Beth; MATTA, Daniel A. da; WARNOCK, David; MORGAN, Juliette. Epidemiology of Candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. **Journal Of Clinical Microbiology**, [S.L.], v. 44, n. 8, p. 2816-2823, ago. 2006. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.00773-06>.

DADAR, Maryam; TIWARI, Ruchi; KARTHIK, Kumaragurubaran; CHAKRABORTY, Sandip; SHAHALI, Youcef; DHAMA, Kuldeep. *Candida albicans* - Biology, molecular characterization, pathogenicity, and advances in diagnosis and control – An update. **Microbial Pathogenesis**, [S.L.], v. 117, p. 128-138, abr. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2018.02.028>.

DA SILVA, E. R. S.; SALMAZZO, G. R.; ARRIGO, J. S.; OLIVEIRA, R. J.; KASSUYA, C. A. L.; CARDOSO, C. A. L. **Anti-inflammatory Evaluation and Toxicological Analysis of Campomanesia xanthocarpa Berg.** *Inflammation*. Aug;39(4):1462-8, 2016.

DICKEL, Michele Luciane; PREÇOS, Stela Maris Kuze; RITTER, Mara Rejane. Plantas usadas popularmente para emagrecer em Porto Alegre, Sul do Brasil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, n. 1, pág. 60-71, 2007.

DIGNANI, MC. **Clinical Mycology**. 2. ed. Amsterdam: Churchill Livingstone, 2009. 700 p.

FALCI, Diego Rodrigues; PASQUALOTTO, Alessandro Comaru. Anfotericina B: uma revisão sobre suas diferentes formulações, efeitos adversos e toxicidade. **Clinical & Biomedical Research**, v. 35, n. 2, 2015.

FORD, Christopher B; FUNT, Jason M; ABBEY, Darren; ISSI, Luca; GUIDUCCI, Candace; A MARTINEZ, Diego; DELOREY, Toni; LI, Bi Yu; WHITE, Theodore C; CUOMO, Christina. The evolution of drug resistance in clinical isolates of *Candida albicans*. **Elife**, [S.L.], v. 4, p. 1-27, 3 fev. 2015. ELife Sciences Publications, Ltd. <http://dx.doi.org/10.7554/elife.00662>.

GEHRING, Gabriela Margraf et al. Candidemia: Revisão Bibliográfica. **Journal of Infection Control**, v. 4, n. 4, 2015.

JORDÃO, Cláudia Carolina. **Expressão de genes relacionados a virulência e envolvidos na síntese de ergosterol de *Candida albicans* resistente a fluconazol submetidos à terapia fotodinâmica associada ao antifúngico.** 2019.

KAUFFMAN, Carol. **Overview of Candida infections.** 2021. Disponível em: https://www.uptodate.com/contents/overview-of-candida-infections?search=CANDIDA%20ALBICANS&source=search_result&selectedTitle=2~112&usage_type=default&display_rank=2#references. Acesso em: 19 mar. 2021.

KLAFKE, J. Z.; SILVA, M. A.; ROSSATO, M. F.; TREVISAN, G.; WALKER, C. I. B.; LEAL, C. A. M.; BORGES, D. O.; SCHETINGER, M. R. C.; MORESCO, R. N.; DUARTE, M. M. M. F.; SANTOS, A. R. S.; VIECILI, P. R. N.; FERREIRA, J. **Antiplatelet, Antithrombotic, and Fibrinolytic Activities of Campomanesia xanthocarpa.** *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 954748, 2012.

KLAFKE, J. Z.; PEREIRA, R. L.; HIRSCH G. E.; PARISI, M. M.; PORTO, F. G.; de ALMEIDA, A. S.; RUBIN, F. H.; SCHIMIDT, A.; BEUTLER, H.; NASCIMENTO, S.; TREVISAN, G.; BRUSCO, I.; de OLIVEIRA, S. M.; DUARTE, M. M.; DUARTE, T.; VIECILI, P. R. **Study of oxidative and inflammatory parameters in LDLr-KO mice treated with a hypercholesterolemic diet: Comparison between the use of *Campomanesia xanthocarpa* and acetylsalicylic acid.** *Phytomedicine*, 23(11), 1227-1234, 2016.

LU, Hui; SHRIVASTAVA, Manjari; WHITEWAY, Malcolm; JIANG, Yuanying. *Candida albicans* targets that potentially synergize with fluconazole. *Critical Reviews In Microbiology*, [S.L.], v. 47, n. 3, p. 323-337, 15 fev. 2021. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/1040841x.2021.1884641>.

MARTINEZ, Roberto. Atualização no uso de agentes antifúngicos. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, [S.L.], v. 32, n. 5, p. 449-460, out. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1806-37132006000500013>.

MENDES, Natália Monção da Costa et al. **Estudo da atividade farmacológica anti-inflamatória do extrato aquoso de *Campomanesia xanthocarpa* em modelo experimental in vivo.** 2018.

NAVES, Plínio Lázaro Faleiro; SANTANA, Diogenes Pinto; RIBEIRO, Evandro Leão; MENEZES, Antônio Carlos Severo. Novas abordagens sobre os fatores de virulência de *Candida albicans*. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 229, 8 nov. 2013. Universidade Federal da Bahia. <http://dx.doi.org/10.9771/cmbio.v12i2.6953>.

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: http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2016/11/ARTIGO-5_RBAC-48-3-2016-ref.-208.pdf.

NUNES, Emmanuel Borges; NUNES, Natália Borges; MONTEIRO, Julius Caesar Mendes Soares; PAES, Andrea Luzia Vaz. Perfil de sensibilidade do gênero *Candida* a antifúngicos em um hospital de referência da Região Norte do Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, [S.L.], v. 2, n. 4, p. 23-30, dez. 2011. Instituto Evandro Chagas. <http://dx.doi.org/10.5123/s2176-62232011000400004>.

OLIVEIRA, Raquel de. **Composição química e atividade antifúngica do óleo essencial de *Campomanesia xanthocarpa*.** 2018. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

PAPPAS, Peter G. et al. Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 48, n. 5, p. 503, 2009.

PAPPAS, Peter G.; KAUFFMAN, Carol A.; ANDES, David R.; CLANCY, Cornelius J.; MARR, Kieren A.; OSTROSKY-ZEICHNER, Luis; REBOLI, Annette C.; SCHUSTER, Mindy G.; VAZQUEZ, Jose A.; WALSH, Thomas J.. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 update by the infectious diseases society of america. **Clinical Infectious Diseases**, [S.L.], v. 62, n. 4, p. 1-50, 16 dez. 2015. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/cid/civ933>.

PARK, Hyunsook; LIU, Yaoping; SOLIS, Norma; SPOTKOV, Joshua; HAMAKER, Jessica; BLANKENSHIP, Jill R.; YEAMAN, Michael R.; MITCHELL, Aaron P.; LIU, Haoping; FILLER, Scott G.. Transcriptional Responses of *Candida albicans* to Epithelial and Endothelial Cells. **Eukaryotic Cell**, [S.L.], v. 8, n. 10, p. 1498-1510, out. 2009. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/ec.00165-09>.

PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J.. Epidemiology of Invasive Candidiasis: a persistent public health problem. **Clinical Microbiology Reviews**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 133-163, jan. 2007. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.00029-06>.

POULAIN, Daniel. *Candida albicans*, plasticidade e patogênese. **Revisões críticas em microbiologia**, v. 41, n. 2, pág. 208-217, 2015.

QUINTERO, C. G. H. Resistencia de levaduras del género *Candida* al fluconazol. **Infectio**. v. 14, n. S2, p. S172-S180, 2010.

RANG, H.P.; DALE, M.M. Farmacologia. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. 808 p.

ROCHA, Wilma Raianny Vieira da; NUNES, Luanne Eugênia; NEVES, Marina Luizy Rocha; XIMENES, Eulália Camelo Pessoa de Azevedo; ALBUQUERQUE, Mônica Camelo Pessoa de Azevedo. Gênero *Candida* - Fatores de virulência, Epidemiologia, Candidíase e Mecanismos de resistência. **Research, Society And Development**, [S.L.], v. 10, n. 4, p. 1-14, 17 abr. 2021. Research, Society and Development. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i4.14283>.

SANTANA, Diorgenes Pinto; RIBEIRO, Evandro Leão; MENEZES, Antônio Carlos Severo; NAVES, Plínio Lázaro Faleiro. Novas abordagens sobre os fatores de virulência de *Candida albicans*. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 229-233, ago. 2013.

SANT'ANNA, Liane Santariano. Efeitos do extrato da *Campomanesia xanthocarpa* sobre parâmetros cardiovasculares em ratos tratados com frutose. **Unipampa.edu.br**, 2012. Disponível em: <<http://dspace.unipampa.edu.br/handle/riui/193>>. Acesso em: 23 Jun. 2021.

SANT'ANNA, L. S.; MERLUGO, L.; EHLE, C. S.; LIMBERGER, J.; FERNANDES, M. B.; SANTOS M. C.; MENDEZ, A. S.; PAULA, F. R.; MOREIRA, C. M. 2017. **Chemical Composition and Hypotensive Effect of *Campomanesia xanthocarpa***. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, volume 2017.

SCHULZE, Jürgen; SONNENBORN, Ulrich. Yeasts in the Gut. **Deutsches Aerzteblatt Online**, [S.L.], v. 106, n. 51-52, p. 1-7, 21 dez. 2009. Deutscher Arzte-Verlag GmbH. <http://dx.doi.org/10.3238/arztebl.2009.0837>.

SERPA, Rosana. **Atividade antifúngica de flavonóides em *Candida* spp. e avaliação de sinergismo com fluconazol**. 2011. 87 f. Tese (Mestrado) - Curso de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.

VALE-SILVA, L. A.; COSTE, A. T.; ISCHER, F.; PARKER, J. E.; KELLY, S. L.; PINTO, E.; SANGLARD, D.. Azole Resistance by Loss of Function of the Sterol $\Delta 5,6$ -Desaturase Gene (ERG3) in *Candida albicans* Does Not Necessarily Decrease Virulence. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [S.L.], v. 56, n. 4, p. 1960-1968, 17 jan. 2012. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.05720-11>.

VALLILO, M. I.; MORENO, P. R. H.; OLIVEIRA, E.; LAMARDO, L. C. A.; GARBELOTTI, M. L.
Composição química dos frutos de Campomanesia xanthocarpa Berg-Myrtaceae. Campinas:
Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos v.28, supl.0, dec. 2008.

VIECILI, P. R. N.; BORGES, D. O.; KIRSTEN, K.; MALHEIROS, J.; VIECILI, E.; MELO, R.
D.; TREVISAN, G.; SILVA, M. A.; BOCHI, G. V.; MORESCO, R. N.; KLAFKE, J. Z. **Effects of
Campomanesia xanthocarpa on inflammatory processes, oxidative stress, endothelial
dysfunction and lipid biomarkers in hypercholesterolemic individuals.** *Atherosclerosis* 234: 85-92,
2014.

VIEIRA, Ana Júlia Hoffmann; SANTOS, Jairo Ivo dos. 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, fev. 2017. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. [http://dx.doi.
org/10.21877/2448-3877.201600407](http://dx.doi.org/10.21877/2448-3877.201600407).

WILLE, Marcos Paulo; GUIMARAES, Thais; FURTADO, Guilherme Henrique Campos; COLOMBO,
Arnaldo Lopes. Historical trends in the epidemiology of candidaemia: analysis of an 11-year period in a
tertiary care hospital in brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S.L.], v. 108, n. 3, p. 288-292,
maio 2013. *FapUNIFESP (SciELO)*. <http://dx.doi.org/10.1590/s0074-02762013000300005>.