



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

FERLANA DYLANA DOS SANTOS OLIVEIRA

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO DE *Carapa guianensis* (MELIACEAE)
FRENTE A CEPAS PADRÕES DE *Candida* spp.**

MACAPÁ-AP

2012

FERLANA DYLANA DOS SANTOS OLIVEIRA

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO DE *Carapa guianensis* (MELIACEAE)
FRENTE A CEPAS PADRÕES DE *Candida* spp.**

**Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da
Universidade Federal do Amapá
como requisito final para obtenção
de Título de Mestre em Ciências da
Saúde.**

**Área de Concentração: Ensaios
Biológicos.**

Orientador: Dr. Roberto Messias Bezerra.

MACAPÁ-AP

2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá

Oliveira, Ferlana Dylana dos Santos.

Atividade antifúngica do óleo de *Carapa guianensis* (MELIACEAE) frente a cepas padrões de *Candida* spp. / Ferlana Dylana dos Santos Oliveira; orientador Roberto Messias Bezerra. Macapá, 2012.

75 f.

Dissertação (mestrado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

1. Meliaceae – Utilização. 2. Andiroba. 3. Óleos vegetais – Ação antifúngica. 4. Sementes oleaginosas. I. Bezerra, Roberto Messias, orient. II. Fundação Universidade Federal do Amapá. III. Título.

CDD. (22.ed). 583.77

FERLANA DYLANA DOS SANTOS OLIVEIRA

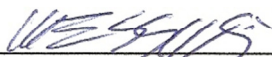
**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DO ÓLEO DE *Carapa guianensis*
(ANDIROBA) (MELIACEAE) EM CEPAS DE *Candida* spp.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Amapá, como requisito final para o título de Mestre em Ciências da Saúde.

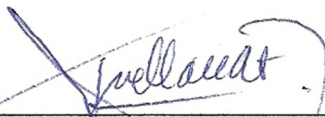
Área de concentração: Ensaios Biológicos.

Dissertação aprovada em: 11 de Junho de 2012.

BANCA EXAMINADORA:



Roberto Messias Bezerra
(Orientador)
Universidade Federal do Amapá (UNIFAP)



Dr. Jorge Frederico Orellana Segóvia
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)



Dr. Flávio Henrique Ferreira Barbosa
Universidade Federal do Amapá (UNIFAP)



Dra. Alessandra Azevedo Nascimento de Medeiros
Universidade Federal do Amapá (UNIFAP)

Dedico

*Ao sonho de fazer ciência para tornar a saúde um direito cada vez
melhor...*

*À todos que enriquecem a ciência com seus preciosos saberes
empíricos...*

A fé e a razão (fides et ratio) constituem como que as duas asas pelas quais o espírito humano se eleva para a contemplação da verdade. Foi Deus quem colocou no coração do homem o desejo de conhecer a verdade e, em última análise, de O conhecer a Ele, para que, conhecendo-O e amando-O, possa chegar também à verdade plena sobre si próprio...

João Paulo II

Carta Encíclica- Fides et Ratio

AGRADECIMENTOS

Ao tornar público esta dissertação eu não podia deixar de nele expressar o meu profundo agradecimento a quantos, por qualquer forma, contribuíram, para a execução e finalização deste trabalho.

A Deus pelo dom de vida, e por me conduzir nos caminhos da ciência.

Ao Prof. MsC Aldo Aparecido Proietti Júnior pelo apoio, incentivo, disponibilidade, orientação e ensinamentos, pela leitura crítica e revisão do presente trabalho, bem como a confiança, atenção e amizade que demonstrou por mim.

A amiga Simoni Lobato que esteve sempre pronta a contribuir, pelo auxílio inestimável, sugestões e colaboração prestada durante a realização do trabalho.

À Prof. Dra. Sheylla Almeida pelas contribuições na manipulação das sementes e extração do óleo.

À Maurício e à Francisco (Chico) do IEPA pelo apoio para com a coleta das sementes.

À Breno Silva do IEPA que fez a identificação botânica do vegetal utilizado.

Aos técnicos de Robério e Rafael pela presteza sempre presente.

À Ivina Lopes pelo importante auxílio na estrutura para execução do trabalho.

À André Mendonça pelas contribuições com o artigo.

À Anderson Pena pela colaboração e presteza durante a preparação dos meios e execução dos testes microbiológicos.

Ao Dr. Jorge Segóvia por toda presteza e colaboração na análise dos resultados obtidos.

Aos colegas da primeira turma de Pós Graduação-Mestrado em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Amapá, em especial: Anna Elisa, Simoni, Luís Alexandre, Luciana, Elzilian, Danilo, Consuelo, Kellen, Giovanni, Elinaldo, Flávia, Fábio e Rachel pela troca de experiências e construção de conhecimento, também pelos momentos de descontração e diversão durante esta etapa de nossa história.

Ao Dr. Roberto Messias pela orientação e atenção à execução deste trabalho.

À minha família pela torcida e apoio constantes.

Aos que mesmo não mencionados aqui em algum momento contribuíram para finalização deste percurso.

RESUMO

Carapa guianensis Aublet é popularmente conhecida como “andiroba”, pertence à família Meliaceae e tem utilização tradicional do seu óleo em toda região amazônica como anti-inflamatório, cicatrizante, antisséptico, emoliente, antirreumático, antiartrítico, repelente de insetos e no combate de doenças da pele. As espécies de *Candida* são fungos que fazem parte da microbiota humana e acabam se tornando patogênicos quando há alterações nos mecanismos de defesa do hospedeiro. O sentido deste estudo foi observar a atividade antifúngica do óleo de *C. guianensis*, sobre cepas de *Candida* spp., comparando metodologias de verificação da atividade. Não houve atividade antifúngica de nenhuma das cinco amostras estudadas de óleo sobre as cepas de *Candida* spp, também não houve diferença nos resultados quando comparadas as metodologias de análises antifúngicas nem quando comparadas as metodologias de obtenção do óleo. Estes resultados não anulam a possibilidade de ação do óleo de andiroba sobre outras espécies de *Candida*, outras leveduras ou fungos filamentosos, também importante a realização de outros estudos para observação da atividade antifúngica de outras partes deste vegetal.

Palavras-Chave: *Carapa guianensis*, *Candida* spp, atividade antifúngica

ABSTRACT

Carapa guianensis Aublet is popularly known as “andiroba”, belongs to the family Meliaceae and it has traditional use of its oil throughout the Amazon region as anti-inflammatory, healing, antiseptic, emollient, antirheumatic, anti-arthritic, insect repellent and combating diseases of the skin. *Candida* species are fungi that are part of the human microbiota and eventually become pathogenic when there are changes in the mechanisms of host defense. The aim of this study was to observe the antifungal activity of the oil of *C. guianensis* on strains of *Candida* spp., comparing methods of activity verification. There was no antifungal activity of any of the five studied samples of oil on the strains of *Candida* spp. There was no difference in results when comparing the methods of antifungal analysis, or when comparing the methods of obtaining the oil. These findings do not negate the possibility of action of andiroba oil on other species of *Candida*, other yeasts or filamentous fungi, being also important to conduct further studies to observe the antifungal activity of other parts of the plant.

Keywords: *Carapa guianensis*, *Candida* spp, antifungal activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Folha de <i>Carapa guianensis</i>	17
Figura 2- Fruto e sementes de <i>Carapa guianensis</i>	19
Figura 3- Óleo de <i>Carapa guianensis</i>	21
Figura 4- Etapas de extração do óleo de andiroba em prensa	38
Figura 5- Etapas da Recuperação das Cepas	39
Figura 6- Etapas de execução do Teste de Microdiluição	40
Figura 7- Esquema da metodologia de Perfuração em ágar	41
Figura 8- Etapas de execução do teste de perfuração em ágar.....	42
Figura 9- Teste de Microdiluição de óleo de andiroba sobre cepa de <i>Candida albicans</i> , com crescimento	44
Figura 10- Teste de Microdiluição de óleo de andiroba sobre cepa de <i>Candida tropicalis</i> , com crescimento	45
Figura 11- Teste de Microdiluição de óleo de andiroba sobre cepa de <i>Candida parapsilosis</i> , com crescimento	45
Figura 12- Isolamento fúngico do crescimento obtido em microplaca	46
Figura 13- Teste de Perfuração em agar com cepa de <i>Candida albicans</i>	46
Figura 14- Teste de Perfuração em agar com cepa de <i>Candida tropicalis</i>	47
Figura 15- Teste de Perfuração em agar com cepa de <i>Candida parapsilosis</i>	47

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

OMS- Organização Mundial de Saúde.

HIV- Vírus da Imunodeficiência Humana.

AIDS- Síndrome da Imunodeficiência Adquirida.

ITU- Infecções do Trato Urinário.

UTI- Unidades de Terapia Intensiva.

CIM- Concentração Inibitória Mínima.

CEP- Comitê de Ética em Pesquisa.

UNIFAP- Universidade Federal do Amapá.

CCCD- Coleção de Cultura Cefar Diagnóstica.

IEPA- Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá.

NCCLS- *National Committee for Clinical Laboratory Standards.*

CLSI- *Clinical Laboratory Institute Standart.*

RPMI- *Roswell Park Memorial Institute.*

MOPS- Ácido 3-(N-morfolino) propanosulfônico.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 Plantas Medicinais	14
2.2 <i>Carapa guianensis</i>	16
2.3 Fungos	22
2.4 Gênero <i>Candida</i>	25
2.5 Terapia Antifúngica	31
3 OBJETIVOS	36
3.1 Objetivo Geral	36
3.2 Objetivos Específicos	36
4 METODOLOGIA	37
4.1 Cepas	37
4.2 Coleta e Processamento da Planta	37
4.3 Extração do Óleo das Sementes de <i>C. guianensis</i>	37
4.4 Recuperação das Cepas e Preparação do Inóculo	38
4.5 Delineamento Experimental	39
4.5.1 Teste de Microdiluição	39
4.5.2 Teste de Perfuração em Ágar	40
4.6 Leitura dos Resultados	42
4.7 Análise Estatística	43
5 RESULTADOS	44
5.1 Testes de Microdiluição	44
5.2 Testes de Perfuração em Ágar	46
6 DISCUSSÃO	50
7 CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS	56

1 INTRODUÇÃO

O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de inúmeras comunidades e grupos étnicos. Ainda hoje são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais. Uma vez que as plantas medicinais são classificadas como produtos naturais, a lei permite que sejam comercializadas livremente, além de poderem ser cultivadas por aqueles que disponham de condições básicas necessárias ao plantio. Seu uso pela população mundial tem sido muito significativo nos últimos tempos. Atualmente, dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostram que cerca de 80% da população mundial fez o uso de algum tipo de erva na busca de alívio de alguma sintomatologia dolorosa ou desagradável. Desse total, pelo menos 30% deu-se por indicação médica. Dessa forma, a OMS recomenda esta prática popular como forma de baixar os custos dos programas de saúde pública (MACIEL et al, 2002; BRASIL, 2006)

As pesquisas realizadas para avaliação do uso seguro de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil ainda são consideradas incipientes, e da mesma forma ocorre com o controle da comercialização destes produtos pelos órgãos fiscalizadores em feiras livres, mercados públicos ou lojas de produtos naturais (VEIGA et al., 2005).

Espécies vegetais brasileiras são usualmente utilizadas como antifúngicos e é notório que o Brasil, devido à sua diversidade vegetal, é um país conhecido mundialmente pela variedade de produtos com ação medicinal, largamente utilizados em suas diversas regiões (BOTELHO et al, 2007).

Devido à ocorrência de fatores indesejáveis como a presença de efeitos tóxicos e o surgimento de resistência de algumas cepas de fungos aos antifúngicos convencionalmente usados, principalmente em indivíduos imunodeprimidos, o estudo de plantas com propriedades terapêuticas, abrangendo aquelas que possuem atividade antimicótica, tem crescido consideravelmente (BOTELHO et al, 2007).

Todas as partes das plantas são utilizadas: raiz, caule, cascas, folha, flor, fruto, e podem apresenta propriedades terapêuticas, e dentre aquelas propriedades atribuídas pela medicina popular citam-se as adstringentes, antidiarreicas, anti-

inflamatórias, depurativas, diuréticas, febrífugas e antimicrobianas (COELHO et al., 2003; DEGÁSPARI et al., 2005).

Várias espécies da família Meliaceae apresentam potencial econômico, tanto no fornecimento de madeiras (LORENZI, 1992) como de óleos, usados para diversas finalidades (CORTEZ et al, 1992). As espécies dessa família também apresentam princípios ativos medicinais ou inibidores de crescimento e repelentes de insetos (KOUL, et al., 1990). *Carapa guianensis* Aublet, conhecida por andiroba, é uma árvore natural da Amazônia que possui grande relevância por possuir múltiplas aplicações, sendo utilizada economicamente pela exploração da madeira e do óleo extraído das sementes (FERRAZ, 2003).

A utilização extensiva da andiroba não é somente pela propriedade de repelir insetos, mas também pelas propriedades medicamentosas e cosméticas (ORELLANA et al., 2004) e apesar da alta densidade da planta e do elevado interesse de mercado, ainda existe pouca informação sobre os aspectos econômicos e ecológicos a cerca da colheita de sementes e do processamento do óleo de *C. guianensis* (PLOUDEN, 2004).

As infecções fúngicas são causadas por leveduras ou fungos dermatófitos e têm maior frequência de acometimento, em indivíduos que apresentam o sistema imunológico debilitado, tais como: pacientes diabéticos, hospitalizados utilizando sondas ou cateteres durante um período prolongado, pacientes submetidos a transplantes, portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV) e síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), portadores de câncer e leucemia (FOSTEL; LARTEY, 2000).

A candidose ou candidíase caracteriza-se como a tipologia de infecção micótica mais comum, sendo que a levedura da espécie *Candida albicans* é o principal agente etiológico, ou seja, o micro-organismo mais frequente. Outras espécies do gênero podem estar envolvidas na etiologia de candidíases, como: *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. stellatoidea* e *C. tropicalis* (LACAZ et al., 2002; SIDRIM; MOREIRA, 1999).

Candida albicans é responsável pela maioria das infecções, contudo, com o aumento da imunossupressão relacionada à variadas condições, tem sido relatada a ocorrência de espécies não-albicans em cultura pura ou predominante, no sangue ou outros locais estéreis do corpo não pode ser ignorado, o que é importante para

detecção da emergência de cepas patogênicas, sobretudo aquelas que desenvolveram resistência contra antimicóticos, apesar de serem menos invasivas e virulentas (KLEPSEK, 2001; KULLBERG; OUDE-LASHOF, 2002; KONEMAN, 2008).

Dentre as espécies de *Candida* conhecidas, que são mais de 100, somente algumas destas têm sido isoladas de casos humanos, destacam-se *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*, sendo que todas essas espécies podem apresentar manifestações clínicas semelhantes, contudo, a gravidade e as opções terapêuticas podem diferir (PFALLER, 1994; COLOMBO; GUIMARÃES, 2003).

É ampla a aplicação de extratos e óleos presentes na flora da região Amazônica, no entanto, há pouca validação científica. Analisar alguns compostos que possam combater infecções causadas por micro-organismos tais como fungos do gênero *Candida*, por exemplo, é de grande valia, pois as infecções causadas por estes micro-organismos têm acometido frequentemente a população nesta região, principalmente por fatores ambientais, como a elevada umidade do ar, propiciarem uma acelerada proliferação de fungos, e estas infecções acometerem mais agressivamente pessoas com comprometimento imunológico, além do alto grau de toxicidade apresentado com o uso das drogas antifúngicas e a elevada resistência demonstrada pelos micro-organismos a estas drogas.

Diante da realidade exposta é necessário desenvolver estudos que apontem novas terapias para combater estas infecções e elucidar a atividade destes compostos que são utilizados na medicina tradicional. A andiroba é utilizada para tratamento de sintomas de inflamações e infecções de diversas origens, o que podem incluir os sintomas apresentados por infecções causadas por *Candida* spp, daí surge a possibilidade de se investigar a presença ou não da atividade antifúngica deste óleo sobre estes micro-organismos, determinando ou não sua eficácia que é muito acreditada por populações tradicionais.

Desta forma, no capítulo 2 será abordado o referencial teórico, no capítulo 3 são expressos os objetivos deste estudo, no capítulo 4 será expressa a metodologia realizada nos ensaios, no capítulo 5 serão expressos os resultados obtidos, no capítulo 6 temos a discussão dos resultados e no capítulo 7 demonstram-se as conclusões percebidas no estudo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Plantas Medicinais

Em diversas partes do mundo se mantêm a prática do uso de plantas medicinais, validando as informações terapêuticas que foram sendo acumuladas pela humanidade durante séculos. Desta maneira, a medicina popular desperta o interesse de pesquisadores em estudos multidisciplinares que enriquecem o inesgotável conhecimento a respeito do uso terapêutico de plantas medicinais (MACIEL et al., 2002).

A pesquisa com plantas vem despertando interesse devido à diversidade molecular dos compostos naturais e suas possíveis ações antimicrobianas (PINTO et al., 2002). Como consequência deste interesse os estudos da atividade de plantas tiveram grande impulso quando a química orgânica possibilitou modificar a estrutura dos compostos a fim de ampliar sua atividade ou seletividade e reduzir toxicidade e/ou efeitos colaterais (CORDELL et al., 2001).

A utilização de plantas no tratamento de enfermidades provavelmente seja tão antiga quanto o próprio homem, tendo o conhecimento popular grande contribuição para a divulgação das propriedades terapêuticas obtidas a partir do uso destas plantas. Dessa forma, esse conhecimento representa um recurso terapêutico para muitas comunidades e grupos étnicos (MACIEL et al., 2002; PINTO et al., 2002; LUBIAN et al., 2010). Essa utilização terapêutica de plantas ocorre principalmente nos locais em que não se dispõem de acesso a médicos ou tratamentos, ou ainda, que preferem a medicina tradicional por questões culturais (LUBIAN et al., 2010).

Plantas são uma importante fonte de produtos naturais biologicamente ativos, muitos destes se constituem em modelos para a síntese de grande diversidade de fármacos com diversas estruturas e propriedades biológicas e físico-químicas também (YUNES; CALIXTO, 2001; PINTO et al, 2002).

O Brasil é o país que possui a maior diversidade vegetal do mundo, com 55.000 espécies catalogadas. O uso de plantas para tratar enfermidades traz influências indígenas, européias e africanas influências estas que são base da

medicina popular que propicia informações a cerca das propriedades e indicações de tais plantas (YUNES; CALIXTO, 2001; PINTO et al., 2002; SIMÕES et al., 2003).

As plantas produzem diversas substâncias químicas resultantes do metabolismo vegetal como os metabólitos secundários exemplificados pelos alcalóides, terpenos e esteróides oriundos a partir de nutrientes, água e luz que recebem, e o fazem em diferentes proporções influenciados por fatores inerentes ao meio ambiente bem como fatores inerentes a própria planta. Estes compostos químicos são sintetizados e degradados por meio de diversas reações anabólicas e catabólicas que compõem o metabolismo vegetal (YUNES; CALIXTO, 2001; SIMÕES et al, 2003).

Os produtos do metabolismo secundário são responsáveis pela atividade terapêutica dos compostos extraídos das plantas, que são utilizados ao natural ou na forma de extratos empregados na terapêutica (YUNES; CALIXTO, 2001; AMZALLAG et al., 2005). Assim, a pesquisa com plantas tem despertado grande interesse devido à diversidade molecular de produtos naturais que é bem maior que a diversidade conseguida nos processos de síntese, o que ocorre também com compostos que possuam ação antimicrobiana (PINTO et al., 2002).

A utilização inadequada de antimicrobianos está ocasionando a perda de eficácia, o que torna necessário o desenvolvimento de novos medicamentos. Deste modo, as perspectivas para uso de drogas antimicrobianas no futuro é incerta. Com isso, devem ser tomadas atitudes que possam remediar este problema, como o controle do uso destes compostos potencialmente prejudiciais (VARGAS et al., 2004),

Tais problemas estimulam a busca por encontrar soluções de fácil obtenção que favoreçam os tratamentos. Assim, os extratos e óleos de plantas têm se mostrado cada vez mais alternativas eficientes no controle do crescimento de uma ampla variedade de micro-organismos, incluindo fungos filamentosos, leveduras e bactérias como agentes causadores de infecções de cunho por vezes superficial, mas que pode tomar proporções disseminadas (DUARTE, 2006).

Considera-se ainda que o uso indiscriminado e prolongado de antimicrobianos determina um processo de seleção de micro-organismos patogênicos mutantes que apresentam assim, resistência as compostos químicos utilizados comumente, o que

torna o uso de antimicrobianos de origem natural uma alternativa eficaz e econômica (VARGAS et al., 2004).

2.2 *Carapa guianensis*

Na região Amazônica, temos uma extensa biodiversidade, com um número satisfatório de óleos e extratos utilizados, popularmente, no tratamento de infecções fúngicas, dentre as diversas espécies, das tantas que merecem destaque podemos citar *Carapa guianensis* Aublet, conhecida como andiroba. (MENEZES, et al. 2009).

Carapa guianensis Aublet, também é popularmente conhecida por andiroba, tem sinônimos como andirova, andiroba-saruba, iandiroba, iandirova, carapa, carapá, carapinha e nandiroba (LORENZI, 1992; FISCH et al., 1995; BICKII et al., 2000; MUELLNER et al., 2003), é uma espécie botânica que pertence à família Meliaceae (PENNINGTON et al., 1981), que é distribuída nos trópicos de todo o planeta, bem como em algumas áreas de zonas temperadas ou área pantropical (JOLY, 1987; PENNINGTON et al., 1981), ocorre naturalmente formando associações na América Central, Peru, Brasil, Suriname, Guianas, África Tropical, Antilhas, Colômbia e Venezuela e é composta por cerca de 50 gêneros e aproximadamente 575 a 600 espécies (PENNINGTON et al., 1981).

A família Meliaceae é pertencente à ordem das Rutales, subdividida em quatro subfamílias, das quais se destacam as Melioideae e Swietenioideae que são as maiores (PENNINGTON et al., 1981). No Brasil, ocorre em toda bacia amazônica, prefere as várzeas e faixas alagáveis ao longo dos cursos d'água e é encontrada do Pará à Bahia (Azevedo et al., 1997). Esta família é representada por 7 gêneros, *Cedrela*, *Cabralea*, *Swietenia*, *Khaya*, *Guarea*, *Trichilia* e *Carapa* (GAIAD; CARVALHO; GUIMARÃES et al., 2004). Muitos dos gêneros comportam espécies de grande valor econômico como: *Carapa* (andiroba), *Cedrela* (cedro) e *Swietenia* (mogno). O gênero *Carapa* é composto por duas espécies, *Carapa procera* e *Carapa guianensis* (PENNINGTON et al., 1981).

No Brasil, *C.procera* e *C.guianensis* ocorrem em ambientes similares em três tipos de habitats: terra firme, igapó e várzea (LEITE, 1997; FERRAZ et al., 2003). Porém, normalmente, apresentam maiores densidades em áreas ocasionalmente alagadas (LEITE, 1997; BOUFLEUER, 2004; PLOWDEN, 2004; KLIMAS, 2006).

O vegetal *Carapa guianensis* Aublet teve a seguinte classificação, pertence à Divisão: Magnoliophyta, Classe: Magnoliopsida, Subclasse: Rosidae, Ordem: Sapindales, Família: Meliaceae, Gênero: *Carapa* e Espécie: *Carapa guianensis* Aubl (BARROSO, 1991).

Morfologicamente, as plantas pertencentes à Meliaceae, em geral, são arbóreas e de grande porte, com folhas grandes, de crescimento apical, sem estípulas, às vezes com pulvinos na base, pinadas, bipinadas ou unifoliadas. Suas flores são pequenas actinomorfas, em inflorescências paniculadas terminais ou nas axilas superiores, hermafroditas, cíclicas, diclamídeas, de simetria radical, com sépalas e pétalas livres. Seus estames são em número duplo ao das pétalas em geral, com filetes alargados soldados em um tubo, com as anteras fixas na porção superior interna. O ovário é súpero, com 4 a 5 carpelos além de lóculos, cada qual com 1 ou 2 óvulos. O fruto é drupa, baga ou capsular loculicida ou baciforme e possui sementes com arilo ou aladas presas à columela. As não aladas podem ser elipsóides, plano-convexas ou angulosas, cobertas ou não por sarcotesta ou um arilóide. O embrião é geralmente reto, com cotilédones planos ou planos-convexos, com eixo radícula-hipocótilo incluso ou externo. No gênero *Carapa*, os cotilédones são muito crassos, fusionados entre si (JOLY, 1987; BARROSO, 1991; MUELLNER, 2003).

Figura 1- Folha de *Carapa guianensis*.



Carapa guianensis é composta por folíolos medindo de 80 a 110 mm de comprimento, podendo atingir cerca 30m de altura e 1,20m de largura. A madeira é

moderadamente pesada, com densidade $0,73\text{g/cm}^3$, dura, porém fácil de fender, superfície ligeiramente áspera ao tato, textura média, pouco resistente às intempéries, contudo inatacável por insetos, alburno pouco diferenciado. Floresce duas vezes ao ano, em agosto-setembro e janeiro-fevereiro, já os frutos amadurecem em junho-julho e fevereiro-março (LORENZI, 1992; AMBROZIN et al., 2006). A casca é cinzenta e grossa. As folhas são impinadas ou abrupto-impinada composta por folíolos subopostos, elíptico-oblongo. Suas flores são pequenas, amarelas ou vermelhas e axilares. O fruto tem forma capsular ovóide semi-globoso, lenhoso, com número variado de sementes vermelhas, coriáceas e quase lenhosas, convexas, angulosas ou irregularmente tetraédricas, achatadas lateralmente. Também foi constatada a ocorrência de floração no estado do Pará entre os meses de fevereiro e março (SAMPAIO, 2000).

C. guianensis é uma espécie com grande potencial de exploração madeireira e não madeireira na Amazônia, trata-se de uma árvore de grande porte que pode atingir até aproximadamente 55 metros de altura, *C. guianensis* possui fuste cilíndrico e reto, podendo apresentar sapopemas. Suas copas são amplas e bastante esgalhadas, suas folhas são longo-percoladas, a casca é grossa e de sabor amargo que se desprende facilmente em grandes placas. A inflorescência ocorre principalmente na extremidade dos galhos apresentando cerca de 30 centímetros de comprimento e cor creme. (FERRAZ et al., 2002; REVILLA, 2000).

Em área de terra firme, as sementes são encontradas sob as copas das árvores-matrizes (MCHARQUE e HARTSHORN, 1983), e são coletadas dentro dos frutos ou soltas, preferencialmente logo após a queda dos frutos (FERRAZ et al., 2002), pois são rapidamente dispersas e consumidas por roedores ou atacadas por insetos, com isso o entorno da árvore se torna uma fonte de alimentos para estes animais que além de se alimentarem dispersam estas sementes que se estabelecem como novos exemplares da planta na floresta (FORGET e JANSEN, 2007).

O fruto desta espécie é do tipo cápsula globosa e subglobosa com quatro a seis valvas deiscente ou indeiscente que no impacto da queda do fruto ao solo libera 4 a 12 sementes pesando em média 21 gramas cada (FERRAZ et al., 2002; REVILLA, 2000). As sementes contem cerca de 26% de casca e 74% de amêndoa e tanto os frutos quanto as sementes de *C. guianensis* são maiores que os de *C.*

procera (AUBLET, 1977; PENNINGTON et al., 1981). As sementes são flutuantes e podem ser dispersas através dos cursos de água, podendo até germinar ainda enquanto flutuam (SCARANO et al., 2003).

Figura 2- Fruto e sementes de *Carapa guianensis*.



O uso desta espécie de planta remonta às civilizações indígenas da época do Brasil Colônia, onde já era conhecida na Europa por apresentar uma madeira resistente e fornecer óleo tido como medicinal e que servira de combustível (LEITE, 1997). A andiroba, que tem uso múltiplo, tendo sua a madeira utilizada para fabricação de móveis, construção civil, lâminas e compensado, suas sementes são usadas para extração de óleo, o qual é de grande importância participando na economia regional e continua sendo muito apreciado, principalmente, na medicina popular (MENDONÇA; FERRAZ, 2007).

C. guianensis e *C. procera* da família Meliaceae, são de múltiplo uso e muito conhecidas pela vasta utilização em toda região amazônica, sendo popularmente chamadas de andiroba, nome que é atribuído às duas espécies. (FERRAZ et al., 2002). A andiroba é muito apreciada com uma larga aplicação na medicina popular em toda a região Norte do Brasil sendo utilizada como anti-inflamatório, antibacteriano, antitumoral e antifúngico (GRAHAM et al., 2000).

Sob o aspecto medicinal, a casca, as folhas e o óleo das sementes da andiroba, são largamente utilizados na fitoterapia, bem como na medicina veterinária, principalmente pelos povos indígenas das tribos *Mundurukú*, *Yãnomami*, *Waiãpi*, *Palikur*, entre outras, assim como pelas populações tradicionais da Floresta Amazônica (BOUFLEUER, 2004).

Utiliza-se ainda os frutos, de onde se extrai o óleo das sementes chamado de azeite de andiroba (BOUFLEUER, 2004). O uso deste óleo tem se diversificado à medida que se avançam as pesquisas científicas a seu respeito, porém, tradicionalmente tem sido largamente utilizado no combate a ectoparasitos. Também é utilizado como anti-inflamatório, cicatrizante, antisséptico, emoliente, antirreumático, antiartrítico, repelente de insetos e no combate de doenças da pele. Já o chá das folhas e da casca tem sido usado como antifebril e como vermífugo (FERRAZ, et al. 2002). O chá da casca da árvore e das folhas é utilizado para combater infecções e no tratamento de doenças da pele, portanto, a andiroba apresenta funções cicatrizantes, anti-inflamatórias, antihelmínticas e inseticida (FAZOLIN, et al., 2000; FERRAZ, et al., 2002; SHANLEY, 2005).

Figura 3- Óleo de *Carapa guianensis*.



Suas sementes contêm lipídios, fibras, minerais e ácidos graxos. O óleo é composto de oleína e palmitina e em índices menores glicerina (BOUFLEUER, 2004). Sua semente encerra 70% de óleo insetífugo e medicinal que é utilizado na medicina popular da região norte do Brasil como febrífugo, anti-reumático, antibacteriano e repelente de insetos (LOUREIRO et al., 1979; LORENZI, 1992; NEVES et al., 2004).

Na composição química do óleo das sementes da andiroba apresentam-se estearinas, ácidos graxos oléicos e ácido mirístico (LORENZI; MATOS, 2000). O extrato hexânico do óleo das sementes de andiroba revelou a presença de taninos a que se atribui a atividade antifúngica e antibacteriana, carboidratos, alcalóides e glicosídeos (MATTHIAS; JOHNS, 1993). Já o extrato metanólico do óleo das sementes de andiroba extraído por cromatografia revelou a presença de limonóides, na qual são substâncias também conhecidas como meliacinas ou tetranortriterpenóides, que apresentam atividades fagoínibitórias e propriedades inseticidas (OLLIS et al., 1970).

O óleo procedente deste vegetal, espécie nativa da região Amazônica, apresenta uma larga aplicação na medicina popular com diversas aplicações, dentre as quais se destacam sua ação antiinflamatória, analgésica, antiartrítica, antitumoral, larvicida e antimicrobiana (HAMMER; JOHNS, 1993; GRAHAM et al., 2000; LORENZI; MATOS, 2000; SILVA et al., 2004; PENIDO et al., 2005).

No primeiro isolamento de limonóides do óleo de andiroba registrado, cerca de 2 a 5% correspondera a limonóides, dos quais: andirobina, epoxiazadiradiona, 6a-acetoxiepoxiazadiradiona, 6a-acetoxigedunina, 6b-acetoxi gedunina, 11b-acetoxigedunina, 6a,11b-diacetoxigedunina, 6b,11b-diacetoxigedunina 6a-hidroxigedunina e 7-desacetoxi-7-oxogedunina (TAYLOR, 1984). Em outro estudo o isolamento desses limonóides, a partir do óleo de andiroba, foi realizado através de várias cromatografias líquidas em coluna e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) reciclante determinou-se o isolamento de angolensato de metila e 1,2-diidro-3b-hidroxi-7-desacetoxi-7-oxogedunina. A continuação do estudo químico permitiu o isolamento de outra gama de limonóides: 17b-hidroxiazadiradiona, gedunina, 6a-acetoxigedunina, 7-desacetoxi-7-oxogedunina e xilocensina k (GAZEL, 1999).

Análises químicas do óleo da andiroba e do extrato aquoso de sua semente revelaram a presença de um grupo de compostos químicos chamados limonóides (tetranortriterpenóides) responsáveis, principalmente, pelas propriedades repelentes de insetos (OLLIS et al., 1970).

Os limonóides são também conhecidos como meliacinas e são assim denominados devido ao seu sabor amargo, estes compostos foram isoladas de plantas pertencentes às famílias Meliaceae, Rutaceae e Cneoraceae. Os limonóides são tetranortriterpenóides e talvez os maiores representantes dessa classe como substâncias inseticidas, no entanto, os monoterpenos simples, como o limoneno e mirceno, desempenham um papel de proteção contra insetos nas plantas que os produzem. Sua rota biossintética em plantas prevê como precursor um triterpeno que, no final, dá origem aos tetranortriterpenóides pela perda de quatro átomos de carbono do precursor original (SIMÕES et al., 2007).

A azadiractina foi isolada inicialmente por Buterworth e Morgan em 1968 (SIMÕES et al., 2007). Em 1975, Zanno e sua equipe propuseram sua estrutura que, posteriormente, foi corrigida por Kraus em 1985. Estes compostos podem ser encontrados em todos os tecidos das plantas, no entanto, os órgãos podem individualmente produzir diferentes tipos de limonóides (NAKATANI, 1996).

Há uma extensa diversidade de limonóides que foram isolados da família Meliaceae, podemos citar as azedarachinas (HUANG et al., 1995), sendaninas e trichilinas (TAKEYA et al., 1996)

As plantas que possuem os compostos limonóides apresentam muitas outras atividades biológicas, além da atividade inseticida, como atividade antitumoral, antifúngica, bactericida e antiviral, o que sugere o papel destes compostos na defesa das plantas contra micro-organismos específicos (CHAMPAGNE, 1992).

2.3 Fungos

Fungos são encontrados no solo, água, vegetais, ar, animais e em detritos em geral, ou seja, são organismos ubiqüitários, são eucarióticos, heterotróficos e possuem parede celular, podem apresentar um só núcleo, estes são classificados como leveduras, e quando apresentam vários, são denominados fungos filamentosos. Os fungos podem ter sua morfologia alterada em função das

condições nutricionais e da temperatura, sendo que muitos deles apresentam potencial patogênico para os seres humanos. De acordo com os tecidos afetados, as micoses são classificadas em micoses superficiais; micoses da pele, unha e pêlos; micoses subcutâneas ou profundas (BERGOLD, 2004).

Os fungos responsáveis por essas infecções são conhecidamente patogênicos como: *Epidermophyton*, *Microsporum*, *Trichophyton*, *Paracoccidioides* e *Histoplasma*, ou fungos patógenos oportunistas como: *Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans* (ZACCHINO, 2001). Espécies de *Candida* são reconhecidas como as leveduras mais frequentes em infecções micóticas oportunistas. Esta infecção chamada de candidose acomete indivíduos em todo o mundo. Estes micro-organismos apresentam-se como comensais ao homem, podendo ser oportunistas em certas ocasiões, habitam normalmente o aparelho digestivo, respiratório, mucosa vaginal, oral e tegumento cutâneo. Seu espectro é bastante extenso, variando desde manifestações banais como a colonização de mucosas, até quadros sistêmicos com a invasão de vários órgãos (SIDRIM; MOREIRA, 1999; CAMARGO, 2008).

As infecções causadas por fungos podem ser classificadas clinicamente em sistêmicas, subcutâneas e superficiais, de acordo com o grau de envolvimento no tecido e o sítio de instalação do agente infeccioso no hospedeiro (TORTORA et al., 2003) Porém várias espécies de fungos outrora considerados superficiais podem causar infecção profunda e conseqüente doença disseminada, por isso são chamados oportunistas (KONEMAN et al, 2008).

Os sintomas iniciais que levam a suspeita de micose, geralmente são inespecíficos, diminuindo assim as chances de diagnóstico clínico correto, além do fato de que as micoses profundas ou disseminadas podem confundir-se com outras infecções como tuberculose, sífilis e brucelose (KONEMAN et al, 2008).

O diagnóstico clínico é sugerido pela presença de alguns sintomas clássicos e inespecíficos como pruridos, ardência, leucorréia e confirmado pelo diagnóstico laboratorial. A terapêutica indicada compreende várias classes de medicamentos antifúngicos orais e tópicos (SIDRIM; MOREIRA, 1999; CAMARGO, 2008).

As leveduras são componentes pertencentes à microbiota de mucosas e pele, e até pouco tempo atrás as leveduras eram consideradas apenas contaminantes,

sem importância clínica. Atualmente, são responsáveis por um número crescente e expressivo de casos de infecções fúngicas (JAYATILAKE et al., 2009).

As micoses sistêmicas referem-se àquelas causadas por agentes que inerentemente podem ser altamente virulentos, podendo invadir profundamente os tecidos e órgãos e sendo capazes de disseminar-se amplamente pelo corpo. Já os oportunistas são os fungos inicialmente não-patogênicos que podem causar infecções subcutâneas e disseminadas, em geral apresentam baixa virulência, mas podem causar doença local ou disseminada em usuários de drogas endovenosas, nos indivíduos debilitados, imunossuprimidos ou naqueles com dispositivos intravasculares ou próteses. Dentre outros, espécies de *Candida* são fungos classicamente considerados oportunistas (KONEMAN et al, 2008).

É certo que todos os procedimentos invasivos e tratamentos que causem imunossupressão têm tornado os indivíduos muito suscetíveis à patógenos encontrados no ambiente nosocomial, como fungos e bactérias (CUENCA-ESTRELLA; RODRIGUEZ-TUDELA, 2002; HOBSON, 2003). No ambiente hospitalar, os pacientes de unidades de terapia intensiva são os mais vulneráveis exatamente porque são aqueles cujo manejo é feito a partir de cateteres intravasculares, sondas vesicais e ventilação mecânica, entre outros métodos invasivos, o que aumenta o risco de infecção oportunista (PETRI et al., 1997; SCHELENZ, 2008). Assim, como consequência do profundo comprometimento dos mecanismos de defesa destes indivíduos hospitalizados ou não, estes micro-organismos passaram a se comportar como oportunistas, sendo capazes de causar quadros infecciosos de alta letalidade (WENZEL, 1995; NUCCI et al., 1998; PAUW; PICAZO, 2008).

Estes micro-organismos são fungos que fazem parte da microbiota humana, mas que podem tornar-se oportunistas caso ocorram alterações nos mecanismos de defesa do hospedeiro, como: comprometimento de barreiras de defesa naturais, secundárias, queimaduras ou procedimentos médicos invasivos e ainda imunossupressão. As manifestações clínicas das infecções causadas por estes fungos podem ir desde infecção local das mucosas até à infecção sanguínea. (PASQUALOTTO, et al., 2006)

Além de bactérias comumente isoladas de infecções do trato urinário (ITU), há muitos casos de isolamento de leveduras, *Candida spp* tem sido relatada

principalmente nas ITU's hospitalares devido ao alto nível de resistência destes micro-organismos aos antimicrobianos (LOPES; TAVARES, 2005).

2.4 Gênero *Candida*

As leveduras do gênero *Candida* são fungos que ocorrem em todo o mundo, seja no solo, em plantas vivas ou mortas e convivem normalmente com o ser humano saudável em locais como pele e mucosas. Esta levedura se apresenta sob as formas de blastoconídeos, pseudo-hifas e/ou hifas verdadeiras. O processo de identificação das espécies deste gênero baseia-se os aspectos morfológicos como aparência, cor e textura das colônias bem como produção de tubo germinativo e pseudohifas que combinados com critérios bioquímicos característicos, constituem-se importantes recursos para a determinação e/ou distinção entre as espécies *C. albicans* e não *albicans* (SIDRIM; MOREIRA, 1999).

As espécies de *Candida* têm crescido como causa de infecção também no âmbito hospitalar, passaram da sétima para a terceira principal causa de infecção nosocomial da corrente sangüínea em unidades de terapia intensiva (UTI), sendo responsável por 8% de todos os episódios registrados (PERLROTH et al., 2007; WISPLINGHOFF et al., 2004).

Em estudo que se objetivou o isolamento e identificação dos agentes etiológicos de onicomicoses em pacientes de um hospital, as leveduras foram a causa mais comum das infeções e das 59 leveduras isoladas foram identificadas 53 (89,8%) como pertencentes ao gênero *Candida*, das quais *C. parapsilosis* e *C. albicans* foram as mais frequentemente isoladas. (ATAÍDES, 2010).

Dentre o gênero *Candida*, a espécie *Candida albicans* é mais frequentemente isolada da cavidade bucal, entretanto a presença deste micro-organismo neste sítio não é necessariamente indicativo de doença, pois, esta levedura pode ser isolada em cerca de 40% de indivíduos saudáveis em diversas faixas etárias (CAMPISI et al., 2006).

Nos Estados Unidos, as espécies de *Candida* ocupam recentemente o quarto lugar entre as causas de infeções nosocomiais sendo responsável por 8 a 15% de todos os casos de septicemia (WISPLINGHOFF et al., 2004; PFALLER; DIEKEMA,

2007). Na Alemanha, a espécie mais frequentemente isolada é *C. albicans* (58.5%), seguida por *C. parapsilosis* (8.0%) e *C. tropicalis* (7.5%) (ZEPELIN et al, 2007).

No Brasil, a taxa de incidência relatada foi maior que a dos países europeus e dos Estados Unidos, sendo *C. albicans* a espécie mais frequentemente isolada em todos os hospitais, e entre as outras espécies envolvidas nos processos infecciosos houve predominância de *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* (COLOMBO 2000; COLOMBO et al., 2007).

No cenário brasileiro, a documentação dos casos de candidíase invasiva tem sido pouco sistemática e a literatura é omissa com relação à real incidência desses processos em nosso país. Apesar disso, sabe-se através de estudo que 4,3% de todas as septicemias relatadas nos hospitais terciários do estado de São Paulo são causadas por espécies do gênero *Candida* e que muitas delas têm mostrado valores de concentração inibitória mínima (CIM) elevados para os antifúngicos de uso mais corrente (COLOMBO, 2003).

Em outro estudo nacional, foi verificado que a incidência de candidemia nos hospitais brasileiros é de 2,9 casos por 1000 admissões (COLOMBO et al., 2006), o que representa valores de 2 a 15 vezes mais elevados do que aqueles observados em outras regiões do mundo como América do Norte e Europa, e que a taxa de mortalidade bruta é 54%. Evidencia-se ainda que dentre os principais fatores de risco para candidíases invasivas, a neutropenia parece ser o mais relacionado à mortalidade de pacientes críticos no Brasil (VELASCO; BIGNI, 2008).

A idade avançada é um importante fator para o aumento de morbidade e mortalidade por meio das infecções fúngicas às quais são acometidos, como com o uso de próteses dentárias que podem estar associadas à irritação mecânica da mucosa oral, que pode acarretar candidose mucocutânea, incluindo candidose oral e estomatite. Por outro lado, os recém-nascidos com condições crônicas também apresentam grande possibilidade de contraírem infecções nos serviços de saúde, no setor nosocomial, com especial comprometimento do sistema nervoso central. Há ainda outras condições de predisposição a infecções por leveduras como alteração das defesas do organismo devido ao comprometimento das proteínas armazenadas ou da produção de anticorpos, supressão da microbiota normal, gravidez e diabetes *mellitus* ou outras doenças metabólicas crônicas (KONEMAN et al, 2008).

De modo geral, os fungos são organismos do meio externo, exceto algumas espécies de *Candida*. Assim, os fungos que entram em contato com o ser humano e animais podem causar danos os quais podem variar de micoses superficiais até micoses mais severas (HAZEN, 1995). Os quadros clínicos mais rotineiramente reportados relacionados à candidíase são as do tipo alérgica, cutâneo-mucosa e sistêmica-visceral (LACAZ et al., 2002; SIDRIM; MOREIRA, 1999). A maioria das infecções disseminadas tem sua origem no trato gastrointestinal, contudo, a pele e o trato genito-urinário podem ser também fontes de infecção (NUCCI; ANAISSIE, 2001; BENDEL, 2003; VILANOVA; CORREIA, 2008).

Em decorrência deste cenário, mudanças expressivas na epidemiologia das micoses hospitalares também têm sido observadas (FRIDKIN, 2005). Há consenso na literatura sobre o aumento das infecções fúngicas e também da alteração na casuística dos agentes etiológicos (ELLIS, 2001; RICHARDSON, 2005; GUERY et al., 2009).

Em se tratando da emergência das infecções fúngicas invasivas em pacientes hospitalizados e da conscientização mundial de sua gravidade, esses processos são ainda pouco considerados no Brasil. De maneira geral, indicadores de infecção fúngica hospitalar, como taxa de infecção fúngica, coeficiente de sensibilidade aos antifúngicos, taxa de letalidade, distribuição percentual das infecções fúngicas por localização topográfica, etiologia, coeficiente de sensibilidade aos antifúngicos ainda são pouco conhecidos (COLOMBO et al, 2003)

Com o passar do tempo, os micro-organismos envolvidos em infecções em serviços de saúde foram variando, devido a fatores ambientais e à pressão seletiva relacionada ao uso de antimicrobianos. Depois da década de 80 foram relatados casos de Gram negativos não fermentadores, *Candida sp.* e alguns tipos de vírus (MORAES, et al, 2000).

Está bem estabelecido que a utilização de antibióticos de largo espectro para prevenção e tratamento de complicações bacterianas, particularmente, aqueles que agem sob altas concentrações no trato gastro-intestinal e que exibem boa atividade contra bactérias anaeróbias Gram negativas, resulta em substancial aumento da população endógena de *Candida spp.* (ANAISSIE, 1992; SEGAL; FREIFELD, 2007). Esse aumento, somado à destruição da barreira epitelial que se segue à quimioterapia antineoplásica ou quaisquer outros fatores imunossupressores, têm

sido considerados importantes para o desenvolvimento de candidemias de aquisição endógena (TIRABOSHI et al., 2000; CHENG et al., 2005; SIMS et al., 2005).

Nas últimas décadas as leveduras do gênero *Candida* tem se tornado importantes causadores de infecção, o que se deve ao aumento de procedimentos invasivos, quebra das barreiras de proteção natural, uso intensivo e indiscriminado de antibióticos de amplo espectro, sendo que a susceptibilidade do indivíduo e a mudança de *C. albicans* de microbiota para agente infeccioso, favorecem a colonização e a infecção fúngica nas vias urinárias por exemplo. (OLIVEIRA, et al., 2001).

Dentre essas infecções fúngicas, aquelas produzidas por *Candida* spp. são as mais importantes causas de morbidade e mortalidade nos pacientes hospitalizados, representando quase 90% de todos os processos infecciosos fúngicos nosocomiais (RUHNKE; MASCHMEYER, 2002; BILLE et al., 2005; ROSA et al., 2008).

Candida spp. têm sido isolada em 8% dos casos de infecção nosocomial da corrente sanguínea e quase a metade dos isolados é de *Candida não-albicans*, incluindo *Candida glabrata* e *Candida krusei* (O'GRADY et al., 2002; GALBÁN; MARISCAL, 2006). Nesses dados percebemos que a emergência de cepas resistentes às drogas antifúngicas tem sido uma constante que tem aumentado tendenciosamente (PFALLER et al., 1998).

Alguns exemplos destas espécies são: *Candida krusei* que é resistente à cetoconazol; *Candida dubliniensis*, cujo fenótipo está estreitamente relacionado a *Candida albicans*, sobretudo as cepas recuperadas de pacientes com candidose orofaríngea, desenvolveu resistência induzida contra fluconazol; determinadas cepas de *Candida lusitanae* possuem resistência esporádica contra Anfotericina B através de mecanismo de troca oriundo de colônias previamente suscetíveis (KONEMAN, 2008).

As infecções micóticas tem crescido não somente em incidência, mas também em fatalidade, principalmente aquelas causadas por *Candida* spp., devido a sobrevida de pacientes transplantados, uso por vezes indiscriminado de drogas e doenças imunossupressoras (SIDRIM; MOREIRA, 1999; LACAZ et al., 2002).

Verifica-se um aumento da frequência de espécies não-albicans como agentes causais de infecções sanguíneas em doentes oncológicos, como: *Candida*

glabrata; *Candida krusei*; *Candida tropicalis* e *Candida parapsilosis*, o que demonstra que há um risco aumentado de candidemias nestes pacientes. Assim, estas infecções invasivas são uma grande ameaça para doentes com cancro, especialmente nos pacientes com tumores hematológicos, pois este grupo de doentes apresentam graves distúrbios hematológicos, e os neutrófilos e linfócitos mononucleares não são capazes de combater estes micro-organismos (PASQUALOTTO, et al, 2006).

O isolamento das espécies não-albicans dos doentes oncológicos supostamente provém do uso em larga escala de antifúngicos, desde o início dos anos 90. Desde então, se recorre á utilização de antifúngicos de forma profilática antes de transplantes de células estamina hematopoiéticas e como prevenção de episódios de neutropenia febril. Contudo, tem-se demonstrado que este não é o fator preponderante à emergência de espécies não-albicans neste tipo de infecções. Pode-se citar *Candida parapsilosis* que está frequentemente associada ao uso de cateteres venosos centrais e *Candida tropicalis* comumente relacionada a doentes oncológicos, especialmente os doentes neutropênicos com inflamações das mucosas, mesmo antes da introdução de antifúngico na prática clínica (PASQUALOTTO, et al, 2006).

Em um estudo com pacientes oncológicos internados, foram isolados 187 micro-organismos, dentre os mais frequentemente encontrados encontrou-se *Candida spp.* com 9,1% (n=17) dos isolados, dos quais 11 (64,7%) foram *Candida albicans* e os restantes 6 (35,3%) isolados são espécies não-albicans: 3 (17,6%) *Candida krusei*; 2 (11,8%) *Candida glabrata* e 1 (5,9%) *Candida parapsilosis*. (PASQUALOTTO, et al. 2006).

A utilização de imunossupressores e corticóides como parte da terapia antineoplásica ou para outros tratamentos podem levar a prejuízos da função dos neutrófilos, monócitos e macrófagos circulantes e comprometer de maneira importante a imunidade mediada por célula T, resultando em aumento do risco de desenvolvimento de micoses profundas (NEOFYTOS et al., 2009).

Tem-se sugerido que os fatores que mais tem predispostos para infecções sanguíneas por espécies não-albicans são: exposição prévia a antifúngicos e outros antimicrobianos; idade, indivíduos muito jovens ou idosos; e doença oncológica de base, especialmente tumores hematológicos (CHOI, et al. 2009). *Candida glabrata* representa cerca de 20% das leveduras isoladas de amostras de urina,

considerando que também já foram relatados casos de endocardite e infecção disseminada causada por esta espécie (KONEMAN, 2008).

Em um estudo observou-se que a maioria dos 15 isolados de *Candida* spp., foram de secreções respiratórias (58,8%) e de urina (23,5%). O local onde se verificaram mais episódios de infecção por *Candida* spp. foi o internamento de Oncologia Médica (47,1%). As infecções por espécies de *Candida* tiveram uma maior incidência nos homens (66,7%) que nas mulheres (33,3%) (CHOI, et al., 2009).

Candida krusei é intrinsecamente resistente ao fluconazol e possui um decréscimo de susceptibilidade aos outros antifúngicos. Assim, é fácil compreender a constante dificuldade na escolha da terapêutica relacionada a esta espécie. *Candida glabrata* é relativamente resistente ao fluconazol devido a mecanismos de efluxo dependentes de energia (CHOI, et al., 2009)..

A emergência de candidemias provocadas pelas espécies *Candida glabrata* e *Candida krusei* representa sérias complicações na terapêutica (CHOI, et al., 2009). Na América do Norte, *C. albicans* é responsável pela maioria das candidemias, sendo seguida por *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. krusei*. (PFALLER et al., 2001). Com relação à América Latina e Brasil, a distribuição das espécies de *Candida* apresenta algumas diferenças, sendo que *C. albicans* é também a principal levedura isolada dos casos de candidemia (COLOMBO et al., 2006).

No entanto, ao contrário do que se observa na região norte do continente americano, as espécies não-*albicans* mais encontradas são *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* (AVILA-AGUERO et al., 2005; GIRÃO et al., 2008). Não obstante este modelo de distribuição, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. pelliculosa* e *C. rugosa* têm sido relatadas com frequência crescente no Brasil (COLOMBO et al., 2006; MATTA et al., 2007; VELASCO; BIGNI, 2008).

As variações no padrão de susceptibilidade das espécies de *Candida* aos antifúngicos entre as regiões têm sido explicadas, exatamente, pelas diferenças na distribuição destas espécies (ARENDRUP et al., 2005). Altos índices de resistência aos derivados azólicos têm sido mais observados em *C. glabrata* e *C. krusei* (PFALLER et al., 1998), agentes de infecção fúngica hospitalar, considerados até então, menos importantes no cenário brasileiro (NEUFELD, 2009).

2.5 Terapia Antifúngica

No século XX, com o advento dos antimicrobianos houve uma revolução no tratamento de doenças infecciosas, mas emergiu com o problema da resistência dos micro-organismos à ação destes antimicrobianos (FONTANA, 2006).

Considerável progresso tem ocorrido com relação a antimicrobianos nas últimas décadas. Entretanto, vários novos compostos têm demonstrado limitações, não se conhecendo, ainda, uma droga ideal para o tratamento eficaz de todas as micoses (BERGOLD, 2004).

Em relação ao tratamento de candidoses, grande quantidade de fármacos obtidos por meio da síntese orgânica tem sido utilizados no tratamento de infecções micóticas, como os antissépticos à base de tintura de iodo, violeta de genciana, ácido salicílico e benzóico, derivados sulfamídicos, corantes, quinonas e antifúngicos poliênicos como a nistatina e a anfotericina. Além destes, utilizam-se também antifúngicos como os azóis representados por: cetoconazol, econazol, sulconazol, miconazol, clotrimazol e fluconazol, além de anfotericina B. Porém, as infecções fúngicas são de difícil tratamento, fato relacionado à elevada resistência da *Candida* frente à ação de alguns antifúngicos convencionais (McLNTYRE, 2002).

Nistatina foi o primeiro antibiótico poliênico a ser isolado em 1949 e é amplamente utilizado até os dias atuais no tratamento tópico de candidíase oral e vaginal. Quando utilizado em baixas concentrações os poliênicos afetam somente as células que possuam esteróis em suas membranas, ligam-se aos ergosteróis criando poros na membrana citoplasmática do fungo, permitindo assim o extravasamento de água e eletrólitos além de interferir nas funções de seletividade da membrana o que pode resultar na morte fúngica (FARIAS; GIUFFRIDA, 2002; NOBRE et al., 2002).

O número de fármacos disponíveis para o tratamento de infecções fúngicas sistêmicas é limitado. Nos últimos anos, a anfotericina B e os azóis, principalmente o cetoconazol, fluconazol e itraconazol, têm sido os fármacos de primeira escolha na terapia. A anfotericina B é um antibiótico fungicida potente de largo espectro, porém seu uso é associado a efeitos adversos significantes, como nefrotoxicidade (GOODMAN; GILMAN, 1996).

Com um aumento importante das infecções fúngicas na década de oitenta, surgiram os azóis que se apresentam como a maior classe de antifúngicos (NOBRE, et al., 2002; TORTORA et al., 2003)

O mecanismo de ação de azóis, fármacos totalmente sintéticos, baseia-se na inibição da síntese de esterol 14- α -demetilase, um sistema enzimático microsomal dependente do citocromo P450, que prejudica a síntese de ergosterol na membrana citoplasmática e leva ao acúmulo de 14- α -metilesteróis, que são precursores metilados que levam à formação de membrana defeituosa com permeabilidade alterada (FARIAS; GIUFFRIDA, 2002; SHANON; SORREL, 2007).

Estes metilesteróis não possuem a mesma forma e propriedades físicas que o ergosterol e levam à formação da membrana com propriedades alteradas, que não desempenha as funções necessárias, prejudicando a captação de nutriente interferindo no desenvolvimento do fungo resultando em necrose celular. (GOODMAN; GILMAN, 1996; BERGOLD; GEORGIADIS, 2004; FICA, 2004).

Assim, os azóis causam menos reações adversas que a anfotericina B, mas são menos potentes que a mesma, podendo ter ação fungistática ou fungicida. O uso excessivo de azóis levou ao aparecimento de resistência em espécies que antes eram suscetíveis a estes fármacos (GOODMAN; GILMAN, 1996; WILLIAMS; LEMKE, 2002).

Como os azóis são metabolizados pela enzima CYP3A4 do fígado, eles têm o potencial de interagir com muitos agentes clinicamente importantes. A administração de agentes azólicos antifúngicos é contraindicada com uso de: agentes antimalários e antidisritmia; quinidinas; benzodiazepínicos que agem no metabolismo oxidativo, como: alprazolam, clordiazepóxido, clonazepam, diazepam, estazolam, flurazepam, halazepam, quazepam e triazolam; dofetilide; antipsicóticos, e estatinas (ELEWSKI; TAVAKKOL, 2005).

Geralmente as infecções fúngicas são de difícil tratamento, fato intrinsecamente relacionado à elevada aquisição de resistência por parte dos microorganismos frente os mecanismos de ação de antifúngicos (ARAÚJO et al., 2004) além de estes fármacos utilizados nas infecções fúngicas podem ser tóxicos para as

células humanas, devido à semelhança entre a célula fúngica e a célula humana (LACAZ et al., 2002).

A maior incidência de micoses invasivas tem sido acompanhada pelo fenômeno de resistência aos antifúngicos (PERFECT, 2004; SWINNE et al., 2009). Os primeiros relatos de resistência ocorreram na década de 80 em pacientes com candidíase mucocutânea crônica tratados com cetoconazol por longos períodos (ODDS, 1993). No entanto, o desenvolvimento de resistência aos antifúngicos azólicos parece ter sido, efetivamente, resultado do uso prolongado e repetido de fluconazol para o tratamento da candidíase oral e esofagiana em pacientes com AIDS, com baixa contagem de células CD4+, no período anterior ao surgimento da terapia antirretroviral de alta potência (SANGLARD, 2002; CASALINUOVO et al., 2004).

O emprego maciço de antifúngicos em tratamentos empíricos e profilaxia de pacientes neutropênicos trouxe um novo contexto clínico ao problema da resistência aos antifúngicos (MELLADO et al., 2002; HOSPENTHAL et al., 2004; NUCCI; PERFECT, 2008). A resistência apresentada pelos micro-organismos ocorre devido mutações genéticas da célula, assim a droga agirá como agente seletivo em uma população (WHITE et al., 1998).

Dentre os mecanismos de resistência apresentados pelos fungos destaca-se a produção, ou superprodução de enzimas, implementação de vias metabólicas alternativas e produção de bombas de efluxo que expulsam o medicamento da célula alvo, neste caso, do fungo (GOLDMAN et al., 2004).

O fluconazol é um dos azóis com atividade reconhecida contra isolados de *C. albicans* (BERGOLD; GEORGIADIS, 2004; CATALAN; MONTEJO, 2006). É o antifúngico mais utilizado para tratamento nos casos de infecção por leveduras do gênero *Candida*, principalmente em pacientes neutropênicos (FICA, 2004; CATALAN; MONTEJO, 2006).

Estudos que utilizaram isolados da mucosa oral de pacientes com AIDS apontaram resistência de 25,42% dos isolados frente a itraconazol, 45,76% a cetoconazol e 66% a fluconazol (SILVA, et al., 1998). Especificamente *C. tropicalis*

demonstrou 48% de resistência ao fluconazol, 33% ao cetoconazol, 17% para 5-fluorocitosona e 17% para itraconazol (LAW et al., 1996)

Ao longo dos últimos anos, a ocorrência de infecções fúngicas humanas tem apresentado aumento expressivo, e vários fatores estão relacionados a este fato, como: melhor diagnóstico laboratorial e clínico, aumento da sobrevivência de pacientes imunodeprimidos e o emprego de medicamentos imunossupressores, utilizados por vezes, de forma abusiva, permitem a instalação de micro-organismos convencionalmente saprófitos (SIDRIM; MOREIRA, 1999)

O tratamento das micoses humanas não é sempre efetivo, pois, pode haver recorrência, além da possibilidade de resistência e por apresentarem importante toxicidade, com isso, há busca contínua de novos antifúngicos mais potentes e mais seguros que os existentes. Sendo que a maioria dos antifúngicos utilizados seja de origem sintética, o estudo em busca de produtos naturais com propriedades antifúngicas voltou a receber especial atenção de cientistas (YUNES; FILHO, 2001).

Considerando a grande necessidade de novos antifúngicos eficazes e o estudo da utilização popular de plantas medicinais seja uma ferramenta muito importante no descobrimento de novos fármacos, estes resultados apontam para a flora brasileira como um importante alvo para pesquisa e consequente desenvolvimento de novos compostos com atividade antifúngica. Entretanto, os dados publicados sobre avaliação do potencial de atividade antifúngica de espécies de plantas desta flora é ainda escarço, frente à grande diversidade contida na flora brasileira. (FENNER et al., 2006).

Vários estudos relacionados à atividade antifúngica *in vitro* têm sido desenvolvidos frente a leveduras de interesse médico, porém há grandes variações associadas ao método de análise da sensibilidade bem como utilização de compostos isolados em pesquisas (LAMBERT, et al., 2001; CHAMI et al., 2004)

É importante observar a resistência das leveduras pertencentes ao gênero *Candida* frente aos antifúngicos atualmente utilizados, pode-se inferir que a pesquisa em busca de novos compostos antifúngicos de origem vegetal mostra-se de relevante significância. É possível observar o potencial antibiótico que os produtos vegetais possuem, e por consequência, a real possibilidade de após estudos,

aplicação destes produtos na prevenção e tratamento de doenças infecciosas de origem fúngica. Porém, é necessário citar a necessidade de realização de estudos de cunho toxicológico e clínico como suporte de segurança para o uso destes produtos como fármacos (LIMA et al., 2006).

Diante do expostos, as pesquisas são muitas vezes dificultadas, pois apesar da Vigilância Sanitária, que é definida como um conjunto de ações capaz de eliminar, diminuir ou prevenir riscos à saúde e de intervir nos problemas sanitários decorrentes do meio ambiente, da produção e circulação de bens e da prestação de serviços de interesse da saúde (BRASIL, 1990), estabelecer normas regulamentadoras, há uma dificuldade visível de padronização de testes para fungos. (PIMENTA, 2008).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Verificar a atividade antifúngica do óleo de Andiroba (*Carapa guianensis*) *in vitro* sobre cepas padrões de *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida parapsilosis*.

3.2 Objetivos Específicos

Avaliar a atividade antifúngica do óleo de andiroba sobre isolados de *Candida* spp.

Definir a Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo de Andiroba sobre isolados de *Candida* spp.

Avaliar possíveis diferenças de acurácia nos resultados encontrados através das metodologias de microdiluição em placa e perfuração em ágar.

Avaliar os resultados obtidos na metodologias de extração técnica por prensa.

Avaliar os resultados obtidos na metodologias de extração artesanal por cozimento.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto de Pesquisa deste trabalho foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), para apreciação e obtenção de Certificado de Isenção, conforme Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, pois o objeto de pesquisa não envolve animais ou seres humanos.

4.1 Cepas

As cepas padrão testadas foram da Coleção de Cultura Cefar Diagnóstica (CCCD), leveduras do gênero *Candida*: *Candida albicans* CCCD-CC001, *Candida tropicalis* CCCD-CC002 e *Candida parapsilosis*- CCCD-CC004.

4.2 Coleta e Processamento da Planta

As sementes de *C. guianensis* foram coletadas na área do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá (IEPA), na Região Central do Município de Macapá e foi identificada por botânico (Silva, B.M.S.), no IEPA- Fazendinha. Uma exsicata foi depositada no herbário do IEPA para identificação: HAMAB-18351 *Carapa guianensis*, OLIVEIRA, F.D.S.-01.

Foram utilizadas cinco amostras de óleo de andiroba, das quais, duas amostras foram extraídas de acordo com o protocolo descrito na metodologia, aqui denominadas A e B, e as demais três amostras de óleo foram adquiridas nas feiras livres de Macapá-AP, sendo estas amostras extraídas de modo artesanal por cozimento da amêndoa seguido do escorrimento do óleo a partir da massa resultante do cozimento, modo pelo qual geralmente se utiliza para extração e uso na medicina popular, estas foram aqui denominadas C, D e E.

4.3 Extração do Óleo das Sementes de *C. guianensis*

As sementes foram cortadas com auxílio de facas, em seguida foram postas para secagem em estufa com temperatura média de 45°C por um período de 3 dias. Após este período de secagem, o material vegetal foi esmagado por prensa hidráulica para obtenção do óleo. Foram obtidas duas amostras de óleo.

Ainda três amostras de óleo foram obtidas em feiras de Macapá, estas amostras foram extraídas de modo artesanal, por cozimento e foram utilizadas para comparação dos resultados diante de diferentes metodologias de extração.

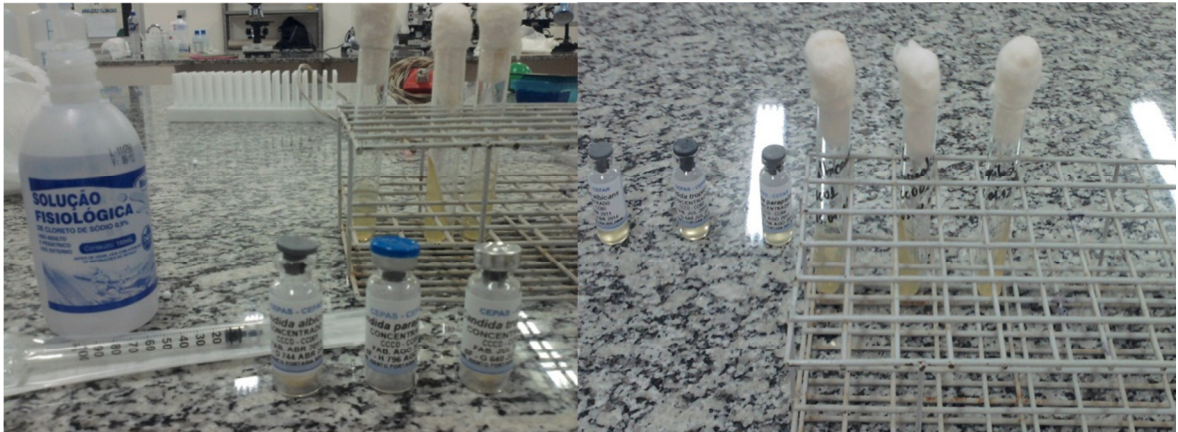
Figura 4- Etapas de extração do óleo de andiroba em prensa.



4.4 Recuperação das Cepas e Preparação do Inóculo

As cepas após serem recuperadas em solução salina, foram inoculadas em Ágar Saboraud dextrose, em seguida estes inóculos foram incubados em temperatura de 35°C por 24 horas. Após este período as colônias foram suspensas em 5 mL de solução salina estéril 0,145mol/L (8,5g/L NaCl; salina a 0,85%) e a densidade celular ajustada a 0,5 da escala de McFarland, com concentração de 1×10^6 a 5×10^6 células por mL.

Figura 5- Etapas da Recuperação das Cepas.



4.5 Delineamento Experimental

O delineamento experimental foi realizado em blocos inteiramente casualizados, constando de 60 tratamentos com 3 repetições, onde foram utilizadas 3 amostras por parcela de testes.

4.5.1 Teste de Microdiluição

Para determinação da concentração inibitória mínima seguiu-se o protocolo M27-A2 do National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), atual Clinical Laboratory Institute Standart (CLSI) (NCCLS, 2002). Nessa técnica utilizou-se microplacas de 96 poços, com 8 linhas e 12 colunas. O meio de cultura utilizado foi o Roswell Park Memorial Institute (RPMI) enriquecido com 2% de glicose, tamponado em ácido 3-(N-morfolino) propanosulfônico (MOPS) e pH 7,2.

Os tratamentos para avaliação antifúngica constaram de: óleo de andiroba a 100% na coluna 1. Adaptando um modelo de avaliação antifúngica utilizado por Ferreira et al., (2009), da coluna 2 a coluna 10, os tratamentos tiveram diluição da droga em teste, reduzindo sua concentração para de 10%, 20%, 30%, 40%, 50%,60%, 70%, 80%e 90% da concentração utilizada na coluna 1. Na coluna 11 utilizou-se 100µL do meio para controle de esterilidade. Na coluna 12 tivemos controle com nitrato de miconazol a 20 mg/ml.

A partir disto, inoculou-se 100 μ L da suspensão de células em cada poço nas colunas 2 a 10 da placa, que fora incubada a 35°C por 48 horas. O ensaio foi realizado em triplicata e repetido por três vezes consecutivas, para assegurar um resultado fidedigno.

Figura 6 – Etapas de Execução do Teste de Microdiluição



4.5.2 Teste de Perfuração em ágar

Os inóculos foram semeados na superfície do meio agar Sabouraud Dextrose contido em placa de Petri com o auxílio de *swab* estéril, cobrindo a superfície da placa, foram realizadas perfurações no ágar, criando cavidades onde foram adicionadas as amostras de óleo de andiroba a 100%, para avaliação da sua atividade sobre as cepas de *Candida*. Em cada poço foi adicionado 20 μ L das amostras de óleo. As placas foram incubadas à 37°C. Os testes foram realizados em triplicatas com 3 repetições.

Figura 7- Esquema da metodologia de Perfuração em ágar.

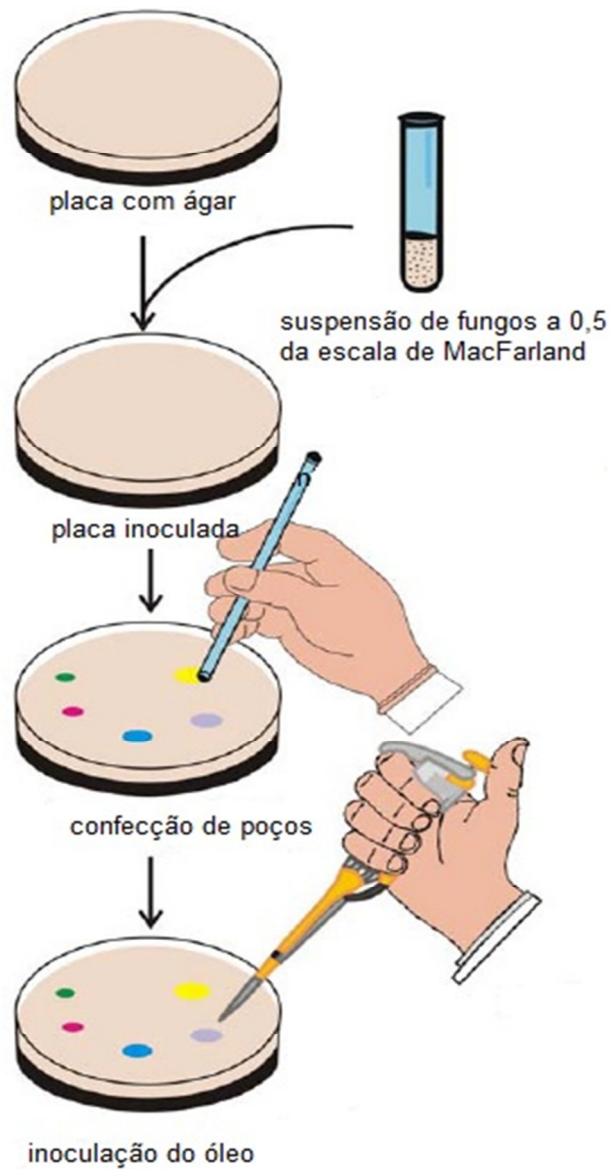
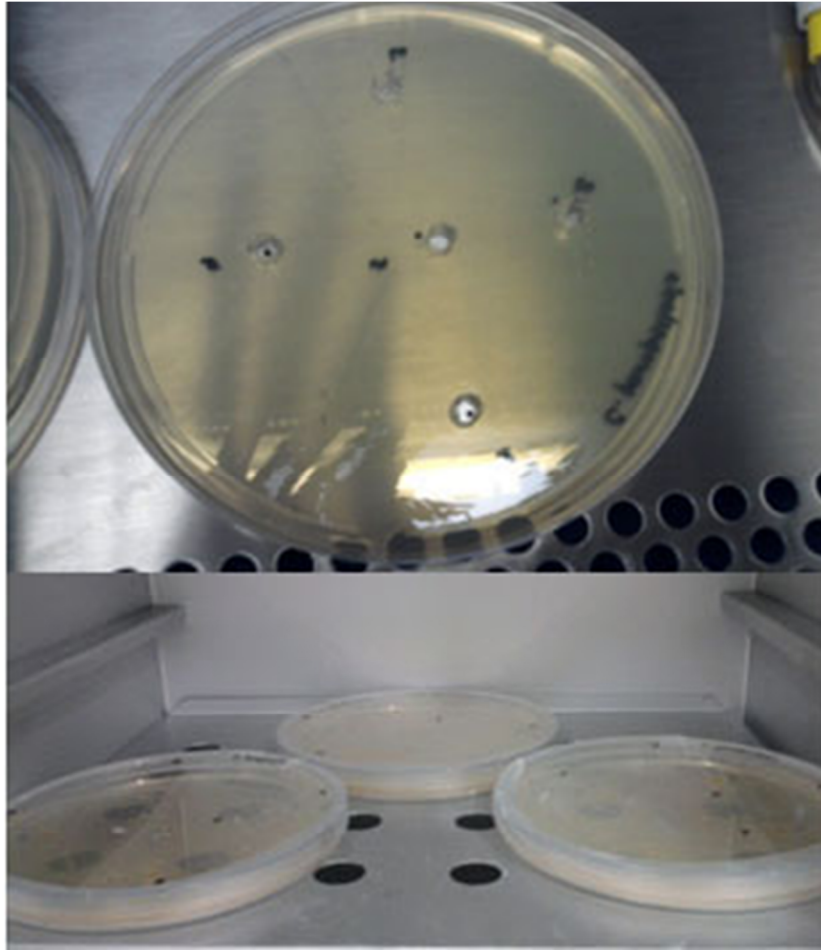


Figura 8- Etapas de execução do teste de perfuração em ágar.



4.6 Leitura dos Resultados

A observação da atividade antifúngica e da CIM, ou seja, da inibição do crescimento fúngico foi feita após 24 horas de incubação, onde se observou através de leitura visual da inibição do crescimento das leveduras em cada poço da placa, com duas leituras, após o período de 24 e de 48 horas de incubação, conforme preconizado (NCCLS, 2002), o mesmo foi feito para leitura da atividade antifúngica no teste de perfuração em ágar.

Consideram-se sensíveis ao óleo de andiroba todas as cepas com ausência de turvação em microplaca e formação de halos de inibição com ausência de colônias microssatélites no seu interior no teste de difusão por perfuração em ágar (NCCLS, 2002; FERREIRA et al., 2009), considerando-se :

0- CEPA SENSÍVEL

1- CEPA NÃO SENSÍVEL

4.7 Análise Estatística

Em se tratando do teste de diluição do óleo de andiroba sobre diferentes cepas de fungos, encontrou-se adequada a análise estatística realizada pelo Teste de Friedman o qual é aplicado quando existe mais de um tratamento, neste caso 11 diluições do óleo de andiroba e 1 nitrato de miconazol para controle, aplicados a um mesmo micro-organismo. Neste caso, o Teste de Friedman sugere o seguinte procedimento, aplicado a situação de blocos inteiramente casualizados, mas sobre a ótica não paramétrica:

- 1- Ordenou-se os tratamentos dentro de cada bloco, segundo suas respostas (da menor para a maior). Respostas empatadas são substituídas pela média das respectivas ordenações;
- 2- Somou-se as ordenações por tratamento (r_i);
- 3- Calculou-se o X^2_0 (qui-quadrado):

$$X_0^2 = \frac{12}{bt(t+1)} \sum_{i=1}^t r_i^2 - 3b(t+1)$$

Onde:

b é número de blocos;

t é o número de tratamentos;

r_i é o total das b repetições do tratamento i ;

X^2_0 é o distribuído aproximadamente como X^2 quando t e b são maiores que três.

- 4- Em seguida, comparou-se o valor obtido X^2_0 com o tabelado com $t-1$ graus de liberdade. Sendo que quando o valor de X^2_0 fora maior ou igual ao tabelado, indicará a existência de diferenças significativas entre as ordenações médias dos tratamentos.

5 RESULTADOS

Inicialmente as amêndoas tiveram peso de 1000g e após a secagem o peso final foi de 757,9g, representando uma redução de 24,21% no peso seco das amêndoas.

Para o processo de extração na prensa se utilizara 60g de sementes cortadas e secas de onde se obtinha aproximadamente 10mL de óleo. É importante ilustrar que há uma grande perda de óleo neste processo de extração, pois o procedimento deixa certa quantidade de óleo na maquinaria da prensa.

5.1 Testes de Microdiluição

Demonstrou-se através desta metodologia que não houve sensibilidade das cepas frente às amostras A, B, C, D e E do óleo de andiroba, ou seja, não houve atividade antifúngica em nenhuma amostra de óleo nas diversas concentrações utilizadas sobre as cepas de *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida parapsilosis*.

Figura 9- Teste de Microdiluição de óleo de andiroba sobre cepa de *Candida albicans*, com crescimento.

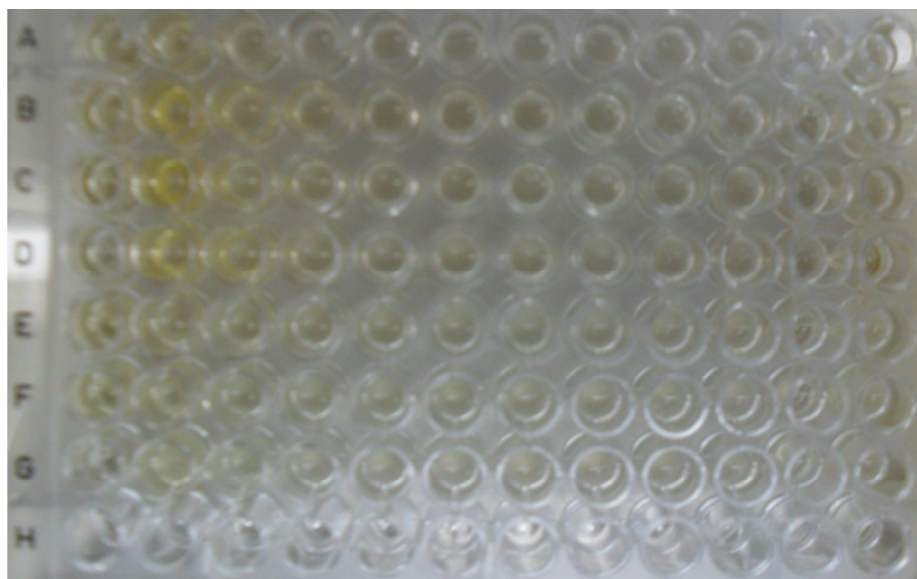


Figura 10- Teste de Microdiluição de óleo de andiroba sobre cepa de *Candida tropicalis*, com crescimento.

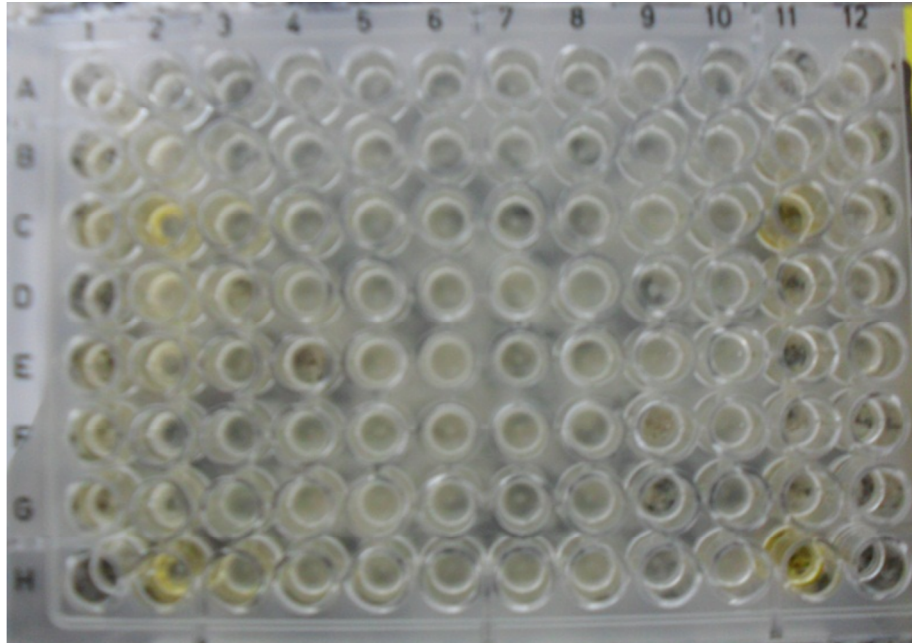
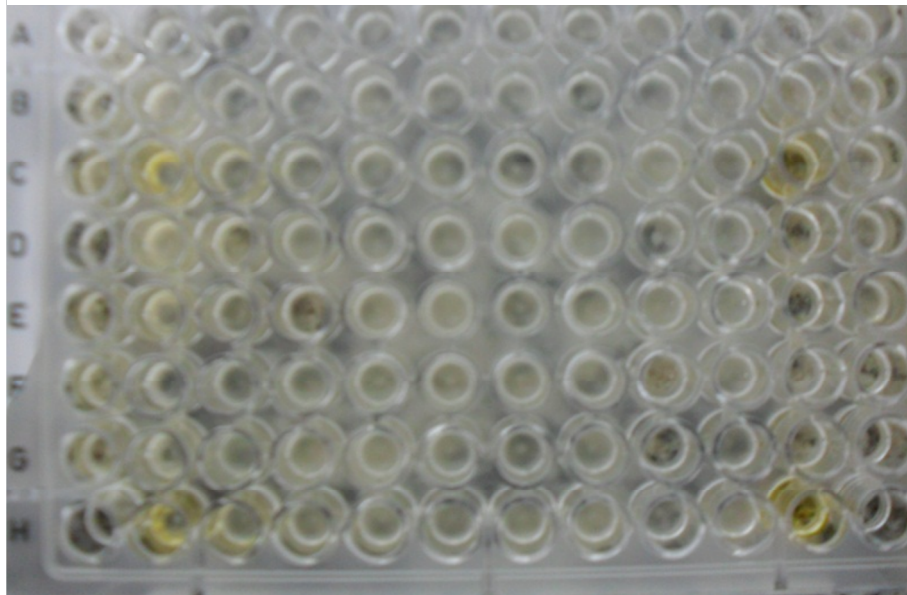


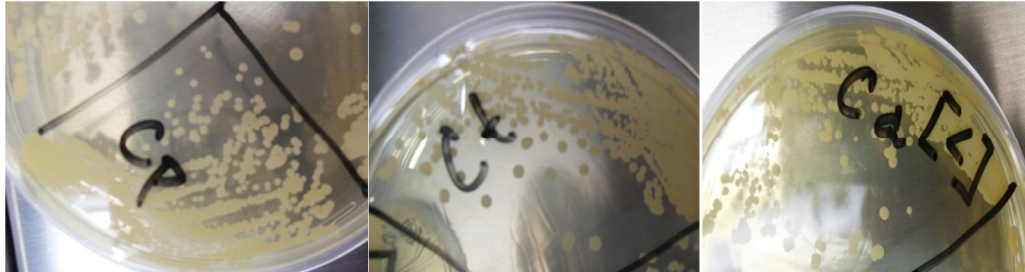
Figura 11- Teste de Microdiluição de óleo de andiroba sobre cepa de *Candida parapsilosis*, com crescimento.



Foi realizado isolamento e identificação morfológica do micro-organismo presente nos poços com maior e com menor concentração de cada amostra de óleo na microplaca, para assegurar que se tratara do mesmo micro-organismo

inicialmente estudado, e comprovar a não contaminação por outros micro-organismos.

Figura 12- Isolamento fúngico do crescimento obtido em microplacas.



5.2 Testes de Perfuração em Ágar

Após incubação para verificação de inibição de crescimento antifúngico, obteve-se atividade negativa, ou seja, não houve ação inibitória das amostras A, B, C, D e E de andiroba em nenhuma das cepas padrão estudadas: *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida parapsilosis*.

Figura 13- Teste de Perfuração em agar de óleo de andiroba sobre cepa de *Candida albicans*, com crescimento.

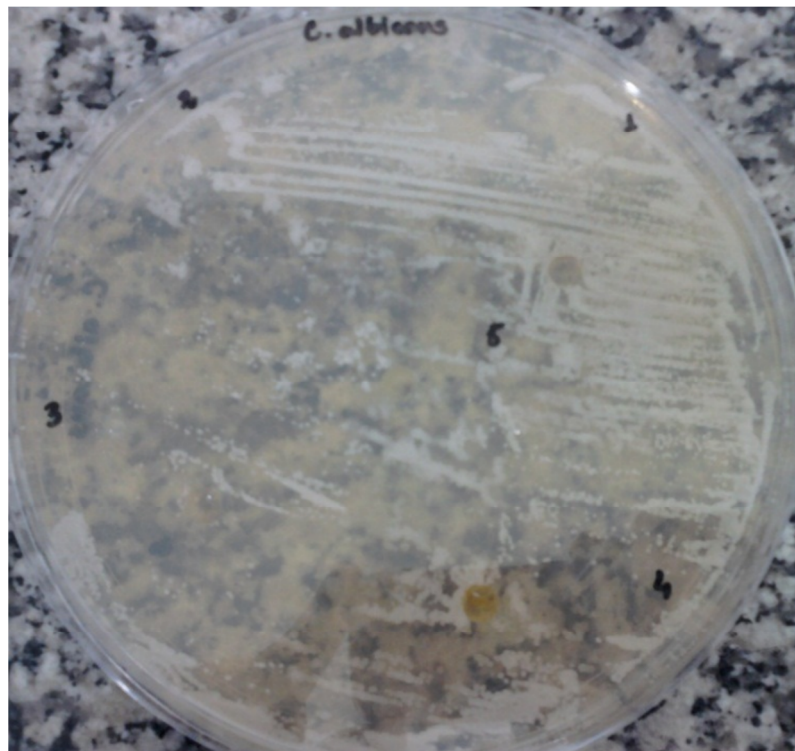


Figura 14- Teste de Perfuração em agar de óleo de andiroba sobre cepa de *Candida tropicalis*, com crescimento.

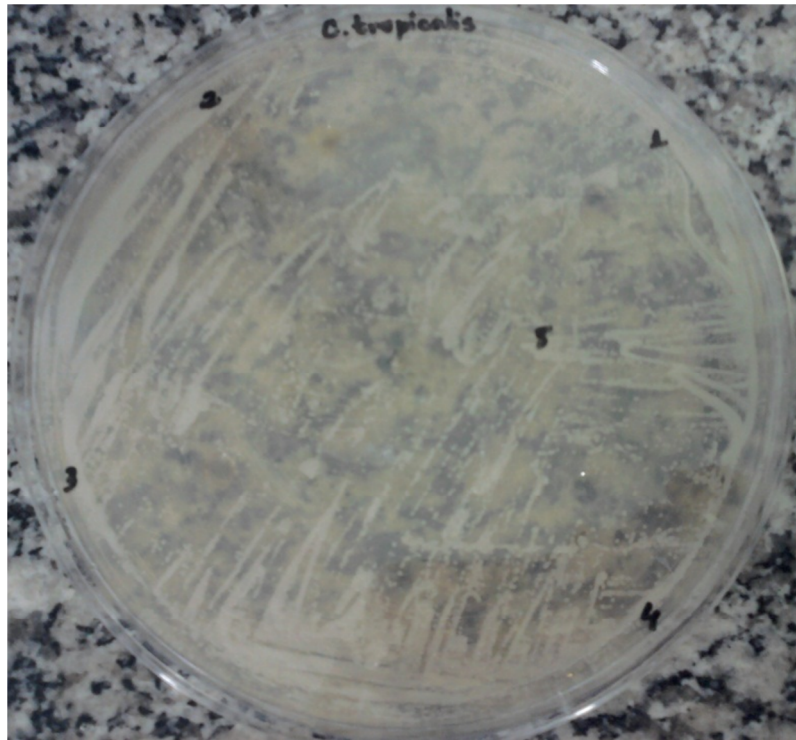


Figura 15- Teste de Perfuração em agar de óleo de andiroba sobre cepa de *Candida parapsilosis*, com crescimento.



Quando observados os resultados obtidos diante das metodologias utilizadas, verificou-se que tanto na metodologia de microdiluição em microplaca, quanto na metodologia de perfuração em ágar, não houve diferença significativa de ação, ou seja, não houve diferença de resultado quanto à ação antifúngica das amostras A, B, C, D e E de andiroba em nenhuma das cepas padrão estudadas: *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida parapsilosis*.

Não houve diferença de resultados em se tratando da atividade inibitória frente às cepas de *Candida* spp. quando comparados os métodos utilizados para extração das amostras de óleo, sendo as amostras A e B extraídas de modo técnico em laboratório e C, D e E extraídas de modo artesanal, por meio de cozimento, dessa forma o método de extração não teve influência nos resultados obtidos frente as cepas-padrão.

Diante dos resultados obtidos observa-se que o delineamento experimental em blocos inteiramente casualizados, assim como o número de repetições programado foi adequado a este tipo de ensaio. Da mesma forma, a aplicação do Teste de Friedman, mostrou-se adequada ao tipo de ensaio realizado, mostrando diferenças significativas entre os tratamentos.

Na tabela 1 têm-se os valores médios da atividade antifúngica do óleo de andiroba sobre fungos do gênero *Candida*, obtida após 24 horas de incubação em relação ao controle que denota ausência de crescimento dos referidos fungos. Assim como o valor do Teste de Friedman, o qual denota a existência de diferenças significativas entre as ordenações médias dos tratamentos.

Os resultados indicam que o valor de X_0^2 calculado foi maior que o tabelado, indicando a existência de diferenças significativas entre as ordenações médias dos tratamentos. Ou seja, se demonstra 95% de probabilidade da superioridade de eficácia do tratamento com a droga convencional, Nitrato de Miconazol, ou seja, estatisticamente superior, quando comparado aos resultados obtidos com o óleo de andiroba a 100% e em todas as suas diluições as quais foram testadas.

Observa-se ainda nos resultados, que não houve diferença entre as diferentes concentrações de óleo de andiroba no controle das diferentes cepas de leveduras das espécies *Candida albicans*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*, o que é um indicativo

de que o óleo de andiroba mostrou-se ineficiente como antifúngico específico para inibição de crescimento destes micro-organismos.

Tabela 1: Avaliação da atividade do óleo de andiroba frente as Cepas de *Candida* spp.

Ordenações												
Bloco	100%	90%	80%	70%	60%	50%	40%	30%	20%	10%	0mL	NM
I	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
II	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
III	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
IV	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
V	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0

Tabela- 2: Somatório médias das ordenações por tratamento realizado.

Tratamentos												
Bloco	100%	90%	80%	70%	60%	50%	40%	30%	20%	10%	0mL	NM
I	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	1
II	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	1
III	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	1
IV	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	1
V	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	1
Soma	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	5

Obteve-se:

$$12/bt(t+1) = 0,019231$$

$$\text{soma } r^2 = 13500$$

$$3b(t+1) = 156$$

$$X^2 \text{ calculado} = 103,6154$$

$$X^2 \text{ tabelado} = 19,68$$

Desta forma, não sendo constatada a atividade d óleo de andiroba em todas as concentrações e procedências estudadas do referido óleo, demonstra-se que independentemente do método de extração do referido óleo não se encontrou atividade contra as leveduras do gênero *Candida* spp.

6 DISCUSSÃO

O estudo de possíveis ativos antimicrobianos presentes em plantas pode ser realizado por meio de testes de inibição do crescimento de micro-organismos, colocados em contato com tecidos ou extratos dessas plantas. Os testes se diferenciam entre si, no que concerne à sensibilidade ou aos seus princípios. Os resultados obtidos podem sofrer influência do método escolhido bem como dos micro-organismos utilizados como indicadores de atividade antimicrobiana (SOUZA et al., 2000).

Vários estudos relacionados à atividade antifúngica *in vitro* têm sido desenvolvidos frente a leveduras de interesse médico, porém há grandes variações associadas ao método de análise da sensibilidade bem como utilização de compostos isolados em pesquisas (LAMBERT, et al., 2001; CHAMI et al., 2004). As técnicas de microdiluição e perfuração em ágar são úteis para a análise da atividade antifúngica, porém seus princípios são diferentes, bem como suas aplicabilidades. A técnica de perfuração em ágar permite a avaliação qualitativa da presença de atividade antifúngica, sendo necessária a difusão do extrato em estudo no meio sólido, já a técnica de microdiluição, ocorre na interface líquido-líquido e permite avaliação quantitativa da atividade antifúngica, facilitando assim a observação dos resultados (THEODORO, 2009).

A utilização destes diferentes métodos para a observação da atividade antifúngica, permite validação destes métodos e observando seus diferentes princípios que indicam diferentes parâmetros de análise de acordo com o método de escolha. Com o uso da metodologia de microdiluição e de perfuração em ágar, nesta pesquisa, foi possível observar a não inibição fúngica do óleo de andiroba tanto qualitativamente quanto quantitativamente já que não houve atividade frente a nenhuma das cepas do gênero *Candida* estudadas.

Os testes para determinação da atividade antifúngica de produtos naturais, especialmente extratos de plantas apresentam muitos desafios, pois, a grande diversidade de metodologia, além disso, o fenômeno de *trailing*, crescimento residual ou inibição parcial do crescimento, que ocorre com leveduras do gênero *Candida* tornam difícil a determinação pontos de corte (LIU et al., 2007). Por outro lado, a

padronização de testes de sensibilidade *in vitro* apresentou grandes avanços, principalmente após a publicação de documentos de referência pelo CLSI.

A composição e forma de manipulação dos produtos naturais podem interferir na ação antifúngica, destaca-se então que estes requisitos técnicos, como as formas de extração do princípio ativo, a produção de extrato, pode interferir na ação antifúngica, pois pode haver diferença na concentração do princípio ativo responsável pela atividade antifúngica (ALMEIDA, 2012). Os compostos presentes em extratos e óleos de plantas podem sofrer alterações de concentrações ou mesmo de composição influenciando diretamente nas atividades biológicas testadas, ou seja, a presença ou ausência de um determinado composto em uma amostra de planta é influenciado pelas ações do ambiente em que vive a planta, bem como as concentrações desses compostos, assim esta presença ou ausência ou diferença de concentrações em plantas de diferentes ambientes pode ser determinante para atividades biológicas de uma mesma espécie.

Desta forma, o refinamento ou mesmo o isolamento de compostos de extratos de plantas para testes de atividade biológica, podem interferir na performance destes frente a micro-organismos, o que não ocorreu neste estudo já que os resultados foram negativos em todas as amostras de óleo utilizadas, independentemente de terem sido extraídas por prensa ou por cozimento das amêndoas. As amostras utilizadas neste trabalho de pesquisa, não passaram por nenhum tipo de processamento de refino, assim o óleo testado sobre as cepas foi de caráter bruto, com o mínimo possível de interferentes físicos ou químicos que pudessem comprometer ou alterar suas propriedades e compostos primitivos ou naturais.

Os limonóides são compostos que foram isoladas de plantas pertencentes às famílias Meliaceae, Rutaceae e Cneoraceae. Os limonóides são tetranotriterpenóides (SIMÕES et al., 2007). Estes compostos já foram isolados da andiroba que possui um grupo de limonóides (tetranotriterpenóides) responsáveis, principalmente, pelas propriedades repelentes de insetos (OLLIS et al., 1970). Há uma extensa diversidade de limonóides que foram isolados da família Meliaceae, podemos citar as azedarachinas (HUANG et al., 1995), sendaninas e trichilinas (TAKEYA et al., 1996)

As plantas que possuem os compostos limonóides apresentam muitas outras atividades biológicas, além da atividade inseticida, como atividade antitumoral, antifúngica, bactericida e antiviral, o que sugere o papel destes compostos na defesa das plantas contra microrganismos específicos (CHAMPAGNE, 1992).

Uma pesquisa buscou verificar a atividade antifúngica dos extratos das frutas maduras da *Melia azedarach* L., membro da família Meliaceae, contra espécies de fungos patogênicos, entre os quais *Candida albicans*, tendo exibido ação antifúngica contra todos os microrganismos testados (CARPINELLA et al., 1999). Além da atividade antifúngica (CARPINELLA et al., 1999), esta planta, que é uma Meliaceae, é detentora de diversas outras propriedades: inseticida (GAJMER et al., 2002), antiviral, antimalárica (KHAN et al., 2001) e anti-helmíntica (McGRAW et al., 2000; JOSHI; JOSHI, 2000), esta planta é utilizada também em doenças de pele, dor estomacal, desordens intestinais, doenças uterinas e cistites, bem como diurético e febrífugo (KHAN et al., 2001), além de outros usos justificando assim sua utilização na medicina popular (ARAÚJO et al., 2009).

Como *Melia azedarach* que também é membro da família Meliaceae, *C. guianensis* apresenta uma larga aplicação na medicina popular com diversas aplicações, dentre as quais se destaca sua ação anti-inflamatória, além da atividade analgésica, antiartrítica, antitumoral, larvicida e antimicrobiana (HAMMER; JOHNS, 1993; GRAHAM et al., 2000; LORENZI; MATOS, 2000; SILVA et al., 2004; PENIDO et al., 2005). Considera-se que infecções micóticas por vezes causam processos inflamatórios na região acometida, a utilização de extratos de plantas popularmente conhecidos por atividade anti-inflamatória, comumente o óleo de Andiroba que tem sua atividade anti-inflamatória muito bem consolidada, por vezes pode mascarar uma regressão do processo infeccioso, quando pode estar agindo especificamente no processo inflamatório regredindo este quadro e não a infecção, principalmente nas infecções de pele e unhas. Este fato deve ser comum quando o óleo de andiroba é utilizado pela medicina popular, para combater quaisquer sinais e sintomas de quaisquer origens em localizações exógenas.

O resultado obtido das amostras de óleo de andiroba sobre as cepas padrão discorda dos resultados obtidos em um estudo em que o óleo apresentou considerável atividade sobre o crescimento das colônias de *Candida* spp. (GAZEL et al., 1999), porém deve-se considerar que não é demonstrado qual o modo de

obtenção do óleo, assim como não é definida a espécie da levedura utilizada no estudo, que somente é designada como patogênica.

Considerando que cepas-padrão são recomendadas para este tipo de avaliação por apresentarem estabilidade genética assim como para monitorização de diversos parâmetros de qualidade em microbiologia (SEJAS et al., 2003). Os resultados obtidos em estudos de avaliação antifúngica de espécies de leveduras deve considerar a presença de fatores de virulência distintos, bem como a diferença fenotípica entre as espécies já que não apresentam a mesma especificação (ALMEIDA, 2012). Este estudo teve uniformidade de resultados na não inibição das cepas em todas as concentrações de óleo estudadas, porém como esperado, o antifúngico sintético utilizado como controle do estudo, o nitrato de miconazol apresentou satisfatória atividade sobre as cepas ensaiadas.

A inatividade antifúngica apresentada por óleos pode ser determinada pelas características químicas do óleo, como solubilidade e complexidade, que podem interferir significativamente nos resultados. Por outro lado, a hidrofobicidade apresentada pelo óleo, responsável pelo provável mecanismo de ação, pode facilitar sua interação com estruturas lipídicas das células fúngicas, provocando aumento da permeabilidade e conseqüente extravasamento de componentes indispensáveis ao fungo (CASTRO; LIMA, 2011).

A inatividade antifúngica frente cepas de *Candida* apresentada pelo óleo de andiroba utilizado pode ser justificado por suas características e compostos presentes ou ausentes. O refinamento ou mesmo o isolamento de compostos de extratos de plantas para testes de atividade biológica, podem interferir na performance destes frente a micro-organismos, o que não ocorreu neste estudo já que os resultados foram negativos em todas as amostras de óleo utilizadas, independente de terem sido extraídas por prensa ou por cozimentos das amêndoas.

Neste caso, a não atividade do óleo de andiroba sobre cepas do gênero *Candida* spp., não anula a possibilidade de atividade deste extrato sobre outros gêneros e espécies de fungos, o que enfatiza a necessidade de ampliação destes estudos que busquem elucidar atividades inerentes ao óleo de andiroba amplamente utilizado pelas comunidades tradicionais como importante combate a variados quadros patológicos.

Há uma grande importância de investigações antifúngica de produtos naturais de origem vegetal que possam ser alternativas quimioterápicas para o tratamento de infecções fúngicas, e isto é de fundamental relevância para a saúde pública. (Pinto et. al, 2011). Este estudo traz uma importante contribuição para a microbiologia fúngica, visto que, segundo a literatura consultada, nenhum estudo aprofundou-se quanto a ação antifúngica do óleo de andiroba, bem como da observação de interferentes quanto à técnica de extração deste óleo.

Há uma diversidade nos resultados apresentados por plantas nas suas mais variadas partes utilizadas, formas de extração, frações, compostos isolados e concentrações estudadas, neste estudo todas as concentrações estudadas e métodos de extração física, tiveram uniformidade de negatividade frente às leveduras.

É importante sugerir que novos estudos de ação antifúngica de extratos de outras espécies vegetais como as lianas e folhagens de *Uncaria guianensis* (unha de gato) e *Uncaria tomentosa* (unha de gato), os pecíolos foliares da epífita *Philodendron megalophyllum* (cipó-de-tracuá), ramos e folhas das fabaceas *Dalbergia monetária* (verônica da várzea) e *Machaerium floribundum* (verônica branca) espécies amplamente utilizadas pela população tradicional amazônica no controle empírico no tratamento de candidíases.

A não atividade do óleo de andiroba sobre cepas de *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida parapsilosis*, não anula a possibilidade de atividade deste extrato sobre outros gêneros e espécies de fungos para determinação de concentrações fungicida e fungistática, avaliação da curva de morte microbiana, além do desenvolvimento de estudos sobre o possível mecanismo de ação e propriedades toxicológicas e que busquem elucidar atividades inerentes ao óleo de andiroba e de outras partes deste vegetal, bem como análises de seus compostos químicos.

7 CONCLUSÃO

O óleo bruto de *Carapa guianensis* não apresentou atividade antifúngica sobre as cepas de *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* em nenhuma das concentrações estudadas;

Não há diferença de resultados quanto ao método de extração do óleo de *Carapa guianensis*;

Não há diferença de resultados quando comparadas as metodologias de perfuração em ágar e microdiluição;

A ineficácia observada neste estudo não anula a possibilidade de ação do óleo de andiroba em outros micro-organismos, fungos filamentosos ou leveduras e até mesmo outras espécies de *Candida* spp;

Se faz necessário o desenvolvimento de novos estudos que busquem de aprofundar a observação da atividade antifúngica de outras partes deste vegetal com seus diversos modos de extração e processamento;

REFERÊNCIAS

AGRA, M. F.; BARACHO, G. S, NURIT, K; BASÍLIO, I. J. L. D; COELHO, V. P. M. Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil. **Joun. Ethnopharm.** v. 111, n. 2, p. 383-395, 2007.

ALMEIDA, L. F. D.; BACHILLER, Y. W. C.; BACHILLER JÚNIOR, R. L.; LIMA, E.O.; CASTRO, R. D. Antifungal effect of tinctures from propolis and pomegranate against species of *Candida*. **Rev Cuba. Estomatol.** v.49, n.2. 2012

AMBROZIN, A. R. P; LEITE, A. C.; BUENO, F. C; VIEIRA, P. C; FERNANDES, J. B.; BUENO, O. C; SILVA, M. F. G. F; PAGNOCCA, F. C. HEBLING, M. J. A.; BACCI JÚNIOR, M. Limonoids from andiroba oil and *Cedrela fissilis* and their insecticidal activity. **Journ. Braz. Chem. Soc.** v.17, n.3, p.542-547, 2006.

AMZALLAG, G. N.; LARKOV, O.; BEN HUR, M.; DUDAI, N. Soil microvariations as a source of variability in the wild: the case of secondary metabolism in *Origanum dayi* Post. **Journ. Chem. Ecol.** v. 31, n. 6, p. 1235-1254, 2005.

ANAÏSSIE, E. J. Opportunistic mycoses in the immunocompromised host: experience at a cancer center and review. **Clin. Infect. Dis.** v. 14 (Suppl. 1), p. S43-S53, 1992.

ARAÚJO, J. C. L. V. et al. Ação antimicrobiana de óleos essenciais sobre micro-organismos potencialmente causadores de infecções oportunistas. **Rev Patol Trop.** n.33, p.55-64. 2004.

ARAÚJO, S. A. C.; TEIXEIRA, M.F.S.; DANTAS, T.V.M.; MELO, V.S.P.; LIMA, F.E.S.; RICARTE, A.R.F.; COSTA, E.C.; MIRANDA, A.M. Usos potenciais de *Melia azedarach* L. (meliaceae): um levantamento. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.76, n.1, p.141-148, 2009.

ARENDRUP, M.C.; FUUSD, K. GAHRN-HANSEN, B.; JENSEN, I.M.; KNUDSEN, J.D.; LUNDGREN, B.; SCHONHEYDER, H.C.; TVEDE, M. Seminal surveillance of fungemia in Denmark: notably high rates of fungemia and numbers isolates with reduced azole susceptibility. **Journ. Clin. Microb.** v. 43, p. 4434-4440, 2005.

ATAIDES, F. S. **Isolamento, identificação e suscetibilidade *in vitro* de fungos causadores de onicomicose.** Dissertação de Mestrado—Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás, 2010.

AUBLET, N. Histoire dès Plaines de la Guiane Française. **Supl. J. Cramer.** v 1, p.32-34 (reedição) Germany, 1977.

AVILA-AGUERO, M. L.; CANAS-COTO, A.; ULLOA-GUTIERREZ, R.; CARO, M. A., AFARO, B; PARIS, M. M. Risk factors for candida infections in a neonatal intensive care unit in Costa Rica. **Inter. J. Infect. Dis.**, v. 9, p.90-95, 2005.

AZEVEDO, C.P. et al. Formação de mudas de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl. - Meliaceae): 1- Resposta a diferentes níveis de sombreamento. **Rev. Ciênc. Agrár.** v.6, n.2, p.1-12, 1997

BARROSO, G. M.. et al **Sistemática de Angiospermas do Brasil.** vol. II. Imprensa Universitária. Viçosa. 377p. 1991

BANERJEE, S. N.; EMORI, T. G.; CULVER, D. H.; GAYNES, R. P.; JARVIS, W. R.; HORAN, T.; EDWARDS, J. R.; TOLSON, J.; HENDERSON, T.; MARTONE, W. J. Secular trends in nosocomial primary bloodstream infections in the united stated, 1980- 1989. national nosocomial infections surveillance system. **Am. J. Med.**, v. 91, p. 86S- 89S, 1991.

BECK-SAGÉ, C. M.; JARVIS, W. R.; NATIONAL NOSOCOMIAL INFECTIONS SURVEILLANCE SYSTEM. Secular Trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. **J. Infect. Dis.**, v. 167, p. 1247-1251, 1993.

BENDEL, C, M. Colonization and epithelial adhesion in the pathogenesis of neonatal candidiasis. **Semin. Perinatol.**, v. 27, n. 5, p. 357-364. 2003.

BERGOLD, A.M. et al. **Novidades em Fármacos Antifúngicos: Uma Revisão.** Curitiba: Visão acadêmica. v. 5, p. 159-172, 2004.

BICKII, J; NJIFUTIE, N; FOYERE, J. A; BASCO, L. K. *In vitro* antimalarial activity of limonoids from *Khaya gradifoliola* C.D.C (Meliaceae). **Journ. Ethnopharmacol.**, v. 69, p. 27-33, 2000.

BILLE, J.; MARCHETTI, O.; CALANDRA, T. Changing face of health-care associated fungal infections. **Cur. Opin. Infect. Dis.**, v. 18, p. 314-319, 2005.

BONASSOLI, L. A.; BERTOLI, M.; SVIDZINSKI, T. I. High frequency of *Candida parapsilosis* on the hands of healthy hosts. **Journ. Hosp. Infect.**, v. 59, n. 2, p.159-162, 2005.

BOTELHO, M.A. et.al. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia siloides*, carvacol and thymol against oral pathogens. **Braz. Jour. Med. Biol. Res.** n. 40, p.349-346, 2007.

BOUFLEUER, N.T. **Aspectos Ecológicos de Andiroba (*Carapa guianensis* Aublet., Meliceaea) como subsídios ao manejo e conservação.** Dissertação (Mestrado em Ecologia e Manejo de Recursos Naturais) 84p. Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2004.

BRASIL. Congresso Nacional- Poder Executivo. **Lei n.º 8.080, de 19 de setembro de 1990. Diário Oficial da República Federativa do Brasil.** Brasília-DF, 1990. Disponível em: <<http://elegis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=181>>. Acesso em: 29 de Novembro de 2011.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **A Fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisas de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos.** Brasília. 2006.

CAMARGO, F. P.; ALVES I. A.; PARLOW, M. S.; GOULART, L. S. Isolamento de *Candida* sp da mucosa vaginal de mulheres atendidas em um serviço de ginecologia do município de Santo Ângelo-RS. **Rev News Lab**; ed. 87. 2008.

CAMPISI, G.; PIZZO, G.; MILICI, M.E. Candidal carriage in the oral cavity of human immunodeficiency virus-infected subjects. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** n. 93, p. 281-286, 2006.

CANTÓN, R. Role of the microbiology laboratory in infectious disease surveillance, alert and response. **Clin. Microbiol. Infect.** v. 11, Suppl. 1, p. 3-8, apr. 2005.

CARPINELLA, M.C.; HERRERO, G.G.; ALONSO, R.A.; PALACIOS, S.M. Antifungal activity of *Melia azedarach* fruit extract. **Fitoter.**, v.70, p.296-298, 1999.

CASALINUOVO, I. A.; DI FRANCESCO, P.; GARACI, E. Fluconazole resistance in *Candida albicans*: a review of mechanisms. **Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.** v. 8, n. 2, p. 69-77. 2004.

CASTRO, R.D.; LIMA, E.O. .Atividade antifúngica dos óleos essenciais de sassafrás (*Ocotea odorifera* Vell.) ealecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) sobre o gênero *Candida*. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.13, n.2, p.203-208, 2011.

CATALÁN, M.; MONTEJO, J.C. Antifúngicos Sistêmicos. **Rev. Iberoam. Mic.** v. 23, p. 39-49, 2006.

CHAMI, N.; CHAMI, F.; BENNIS, S.; TROUILLAS, J.; REMMAL, A. Antifungal treatment with carvacol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. **Braz. Journ. Infecti. Disea.** v. 8, n.3, p.217-226, 2004.

CHAMPAGNE, D.E. Biological activity of limonoids from the rutales. Review article number 65. **Phytochem.**, v. 31, p. 377-394, 1992.

CHENG, M. F.; YANG, Y. L; YAO, T. J.; LIN, C. Y.; LIU, J. S.; TANG, R. B.; YU, K. W.; FAN, Y. H.; HSIEH, K. S.; HO, M.; LO, H. J. Risk factors for fatal candidemia caused by *Candida albicans* and non-*albicans* *Candida* species. **BMC Infect. Dis.**, v. 5, n. 1, p. 22-26, apr. 2005.

CHOI, H. K. et al. Blood Stream Infections by *Candida glabrata* and *Candida krusei*: A Single-Center Experience. **Kor Jour Intern Medic.** v. 24, n. 3, p. 263-269. 2009.

COELHO, A. M. S. P., SILVA, G. A., VIEIRA, O. M. C., CHAVASCO, J. K., Atividade antimicrobiana de *Bixa orellana* L. (Urucum). **Rev. Lect.** v.21, n.1/2, p. 47-54, 2003.

COLOMBO, A.L. Epidemiology and treatment of hematogenous candidiasis: a Brazilian perspective. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 4, p.113-118, 2000.

COLOMBO, A. L. **Contribuição para o entendimento da epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. e para sua abordagem terapêutica.** Tese (Livre-Docência) - Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo. 287p. 2003.

COLOMBO, A. L.; PERFECT, J.; DINUBILE, M.; BARTIZAL, K.; MOTYL, M.; HICKS, P.; LUPINACCI, R.; SABLE, C.; KARTSONIS, N. Global distribution and outcomes for *Candida* species causing invasive candidiasis: results from an international randomized double-blind study of caspofungin versus amphotericin B for the treatment of invasive candidiasis. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 22, n. 8, p. 470-474, 2003.

COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 36, n. 5, p. 599-607, 2003.

COLOMBO, A. L.; NUCCI, M.; PARK, B. J.; NOUÉR, S. A.; ARTHINGTONSKAGGS, B.; DA MATTA, D. A.; WARNOCK, D.; MORGAN, J.; BRAZILIAN NETWORK CANDIDEMIA STUDY. Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. **J. Clin. Microbiol.**, v. 8, n. p. 2816-2823. 2006.

COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T.; SILVA, L. R.; DE ALMEIDA MONFARDINI, L. P.; CUNHA, A. K.; RADY, P.; ALVES, T.; ROSAS, R.C. Prospective observational study of candidemia in São Paulo, Brazil: incidence rate, epidemiology, and predictors of mortality. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, v.28, p.570-576, 2007.

CORDELL, G. A.; QUINN-BEATTIE, M.L.; FARNSWORTH, N.R. The potential of alkaloids in drug discovery. **Phytot. Res.** v. 15, p. 183-205, 2001.

CORTEZ, D. A. G.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; SILVA, M. F. G. F.; FERREIRA, A. G. Liminoids from *Trichilia hirta*. **Phytochemistry** 31: 625-628, 1992.

CUENCA-ESTRELLA, M.; RODRÍGUEZ-TUDELA, J. L. Pueden basarse las indicaciones de los antifúngicos en los estudios de sensibilidad? **Rev. Iberoam. Micol.**, v. 19, p. 133-138, 2002.

DAMASCENO D. D.; TERRA, F. S.; LIBÂNIO, S. I. C. Perfil da Resistência Antimicrobiana nas Infecções do Trato Urinário em uma Instituição Hospitalar. **Rev. Holos**, Ano 27, Vol. I. 2011.

DEGÁSPARI, C. H., WASZCZYNSKYJ, N., PRADO, M. R. M., Atividade antimicrobiana de *Schinus terebenthifolius* Raddi. **Rev. Ciênc. e Agrotec.** v.29, n.3, p.167-622. 2005.

DUARTE, M. C. T. **Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil.** 7 ed. Campinas, Multiciência, 2006.

ELEWSKI, B., TAVAKKOL, A. Safety and tolerability of oral antifungal agents in treatment of fungal nail disease: a proven reality. **Therap. and Clin. Risk Manag.** v. 1, p 299-306, 2005.

ELLIS, M. Invasive fungal infection: evolving challenges for diagnosis and therapeutics. **Mol. Immunol.**, v. 38, p. 947-957, 2001.

FARIAS, M.R.; GIUFFRIDA, R. Antifúngicos. IN: ANDRADE, S.F. **Manual de Terapêutica Veterinária.** P. 59-70, São Paulo, 2002.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; PESSOA, J. S. **Avaliação do uso do óleo de andiroba *Carapa guianensis* Aubl., no controle de *Ceratomyxa tingonarius* Bechynebeo em feijoeiro no Acre.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NATURAIS. Anais. Academia Paraense de Ciências. Fortaleza, 2000.

FENNER, F.; et al. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Braz. Jour. of Pharmac. Sci** vol. 42, n. 3, jul./set., 2006

FERRAZ, I.D.K. **Andiroba, *Carapa guianensis* Aublet.** Manaus: Informativo técnico da rede de sementes da Amazônia, n. 1, 2003.

FERRAZ, I. D. K.; CAMARGO, J. L. C.; SAMPAIO, P. T. B. Sementes e plântulas de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl. e *Carapa procera*, D.C): aspectos botânicos, ecológicos e tecnológicos. **Acta Amaz.** v. 32, n. 4, p. 647-661, 2002.

FERRAZ, I. D. K.; SAMPAIO, P. T. B. Métodos simples de armazenamento das sementes de andiroba (*Carapa guianensis* Aublet. e *Carapa procera* D.C. – Meliaceae). **Acta Amazonica**, v. 26, n. 3, p. 137-144, 1996.

FERREIRA, T.M.; SILVA, F.S.; TEODORO, G.R.; COSTA, A.C.B.P.; MARIA, A.; BELTRAME-JÚNIOR, M.; KHOURI. Atividade Antifúngica do Citral em Leveduras do Gênero *Candida* Isoladas de Pacientes Hospitalizados. **Rev. Inst. Adolfo Lutz.** v. 68, n. 1, 2009.

FICA, A.C. Tratamiento de Infecciones Fungicas Sistémicas- Primeira Parte: Fluconazol, Itraconazol y Voriconazol. **Rev. Chil. Infect.** v.21, n. 1, p. 26-38, 2004.

FISCH, S. T. V; FERRAZ, I. D. K; RODRIGUES, W. A. . Distinguishing *Carapa guianensis* Aubl. from *Carapa procera* D.C. (Meliaceae) by morphology of young seedlings. **Acta Amaz.** v. 25, p.193-200, 1995.

FONTANA, R. T. As infecções hospitalares e a evolução histórica das infecções. **Rev. Bras. Enferm.** v. 59, n. 5, p. 703-706. 2006.

FORGET, P. M.; JANSEN, P. A. Huting increases dispersal limitation in the tree *Carapa procera*, a nontimber forest product. **Conserv. Biol.** v. 21, n. 1, p. 106-113. Cambridge, Feb-2007.

FOSTEL, J.M.; LARTEY, P.A. Emerging novel antifungal agents. **Drug Discov. Tod.** v. 5, p. 25-32. 2000.

FRIDKIN, S. K. The changing face of fungal infections in health care settings. **Clin. Infect. Dis.**, v. 41, n. 10, p. 1455-1460, 2005.

GAIAD, S.; CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras-Meliaceae.** Agência de Informação-Embrapa Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/especies_arboreas_brasileiras/arvore/CONT000fu1i7dcf02wyiv807nyi6s3mg58px.html). Acesso em: 11 de Novembro de 2011.

GAJMER, T.; SINGH, R.; SAINI, R.K.; KALIDHAR, S.B. Effect of methanolic extracts of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) and bakain (*Melia azedarach*) seeds on oviposition and egg hatching of *Earias vittella* (Fab) (Lep., Noctuidae). **Journ. Appli. Entom.**, v.126, p.238-243, 2002.

GALBÁN, B.; MARISCAL, F. [Epidemiology of candidemia in ICU]. **Rev. Iberoam. Micol.**, v. 23, n. 1, p. 12-15, 2006.

GAZEL, C. L. L; TAPAJÓS, M. P. F.; QUEIROZ, S. O. C.; AQUINO, V. H. R.; ESCHER, S. K. S.; BOGER, A. E.; LIBERAL, M. A. Estudo *In Vitro* da Atividade Antimicrobiana do Óleo Essencial de *Andiroba* (*Carapa Guianensis*) Frente a Cepas

de *Escherichia Coli* e *Candida* sp. Resumos da 22^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, PN-69, 1999

GIRÃO, E.; LEVIN, A. S.; BASSO, M.; GOBARA, S.; GOMES, L. B.; MEDEIROS, E. A.; COSTA, S. F. Seven-year trend analysis of nosocomial candidemia and antifungal (fluconazole and caspofungin) use in Intensive Care Units at a Brazilian University Hospital. **Med. Mycol.**, v. 10, p. 1-8, 2008.

GOODMAN; GILMAN. **As Bases farmacológicas da terapêutica**. 9 ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana, 1996.

GOLDMAN, G. H.; et al. Evaluation of fluconazole resistance mechanisms in *Candida albicans* clinical isolates from HIV-infected patients in Brazil. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.** v. 50, p. 25-32. 2004.

GOVINDACHARI, T. R.; SURESH, G.; GOPALAKRISHNAN, G.; BANUMATHY, B.; MASILAMANI, S.; **Phytoparasi.** , n. 26, v.1, 1998

GRAHAM, J. G.; QUINN, M. L.; FABRICANT, D. S.; FARNSWORTH, N. R. Plants used against cancer - an extension of the work of Jonathan Hartwell. **Journ. Ethnopharm.**, n.73, p. 347-377. 2000.

QUERY, B. P.; ARENDRUP, M. C.; AUZINGER, G.; AZOULAY, E.; BORGES-SÁ, M.; JOHNSON E. M.; MÜLLER, E.; PUTENSEN, C.; ROTSTEIN, C.; SGANGA, G.; VENDITTI, M.; ZARAGOZA-CRESPO, R.; KULLBERG, B. J. Management of invasive candidiasis and candidemia in adult non-neutropenic intensive care unit patients: Part I. Epidemiology and diagnosis. **Intensive Care Med.**, v. 35, n.1, p. 55-62, 2009.

GUIMARÃES, K. V; MARINHO, P. S. B; SILVA, M. das G. F; FERNANDES, J. B; VIEIRA, P. C; MULLER, M. W. **Limonóides isolados na família Meliaceae**. XXVI Reunião Anual sobre Evolução, Sistemática e Ecologia Micromoleculares Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, 2004.

HAMMER, M. L.; JOHNS, E. A. Tapping an Amazonian plethora: four medicinal plants of Marajo Island, Para (Brazil). **Journ. Ethnopharm.** n.40, p 53-75. 1993.

HAZEN, K.C. New and emerging pathogen yeasts. **Clin Microbiol Rev** v. 8, p. 462-478. 1995.

HOBSON, R. P. The global epidemiology of invasive candida infections – is the tide turning? **Journ. Hosp. Infect.**, v. 55, p. 159-168, 2003.

HOLZHEIMER, R. G.; DRALLE, H. Management of mycoses in surgical patients. **Eur.J. Med. Res.**, v. 7, p. 200-226, 2002.

HOSPENTHAL, D. R. MURRAY, C. K.; RINALDI, M. G. The role of antifungal susceptibility testing in the therapy of candidiasis. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.** v. 48, p. 153-160. 2004.

HUANG, R. C.; TADERA, K.; YAGI, F.; MINAMI, Y.; OKAMURA, H.; IWAGAWA, T. Limonoids from *Melia azedarach*. **Phytochem.**, v.43, p.581-583, 1996.

JAYATILAKE J.A.M.S.; TILAKARATNE W.M.; PANAGODA G.J. Candidal onychomycosis: a minireview. **Mycopathol.** v.168, p.165-173, 2009.

JOLY, A. B.. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 8 ed. São Paulo: Editora Nacional. 1987.

JOSHI, A.R.; JOSHI, K. Indigenous knowledge and uses on medicinal plants by local communities of the kali gandaki watershed area, Nepal. **Journ. Ethnoph.** v.73, p.175-183, 2000.

KLEPSEK, M. E. Antifungal resistance among *Candida* species. **Pharmacotherapy**, v.21, n. 8S, p. 124S-132S, 2001.

KHAN, M.R.; KIHARA, M.; OMOLOSO, A.D. Antimicrobial activity of *Horsfieldia helwiigi* and *Melia azedarach*. **Fitoter.** v.72, p.423-427, 2001.

KLIMAS, C. A. **Ecological review and demographic study of *Carapa guianensis***. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal), 65 p. Universidade da Flórida, Gainesville, 2006.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; et al. **Diagnóstico Microbiológico Texto e Atlas Colorido**. 6 ed. Tradução: Toros, EF, et al. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2008.

KOUL, O.; ISMAN, M. B.; KETKAR, C. M. Properties and use of neem, *Azadiracta indica*. **Can. Jour. Bot.** v. 68, n. 1, p.1-11, 1990.

KULLBERG, B. J.; OUDE-LASHOF, A. M. L. Epidemiology of opportunistic invasive mycoses. **Eur. J. Med. Res.**, v. 7, p. 183-191, 2002.

LACAZ, C.S.; PETTINATI, A. S.; SALEBIAN, A. **Candidíases**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1980.

LACAZ, C.S.; PORTO, E.; MARTINS, J.E. C. **Tratado de Micologia Médica**. 9 ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

LAMBERT, R. J. W.; SKANDAMIS, P. N.; COOTE, P.J. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacol. **Journ. Appl. Microb.** v. 91, p.453-462, 2001.

LAW; D.; MOORE, C. B.; JOSEPH, L. A. High incidence of antifungal drug resistance in *Candida tropicalis*. **Intern. Journ. Antim. Agen.**, v.7, p. 241-245, 1996.

LEITE, A. M. C. **Ecologia de *Carapa guianensis Aublet* (Meliaceae) “andiroba”**. 181 p. Tese (Doutorado em Biologia Ambiental) - Universidade Federal do Pará/ Museu Paraense Emílio Goeldi Belém, 1997.

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

LIU, M.; SEIDEL, V.; KATERERE, D. R.; GRAY, A. I. Colorimetric broth microdilution method for the antifungal screening of plant extracts against yeasts. **Methods**, v.42, p. 325-329, 2007.

LOPES, H.V.; TAVARES, W. Diagnóstico das Infecções do Trato Urinário. **Rev Ass Med Bras** n.51, p.301-312. 2005.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Editora Plantarum, Nova Odessa. 1992.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas**. Nova Odessa, São Paulo. 2000.

LOUREIRO, A.A.; SILVA, M.F.; ALENCAR, J.C. **Essências madeireiras da Amazônia**. Manaus: INPA/ SUFRAMA, U.A., 1979.

LUBIAN, C.T.; et al. Atividade Antifúngica do Extrato Aquoso de *Arctium minus* (Hill) Bernh. (Asteraceae) sobre espécies orais de *Candida*. **Rev Bras Plan Med** v. 12, n. 2, p. 157-162, 2010.

MAChARGUE, L.A.; HARTSHORN, G. S. **Seed and seedling ecology of *Carapa guianensis***. Turrialba v. 33, n. 4, p. 399-440. 1983.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR, V. F. Plantas Medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova** v25, n.3, p. 429-438. 2002.

MATTA, D. A.; DE ALMEIDA, L. P.; MACHADO, A. M.; AZEVEDO, A. C.; KUSANO, E. J.; TRAVASSOS, N. F.; SALOMÃO, R.; COLOMBO, A. L. Antifungal susceptibility of 1000 *Candida* bloodstream isolates to 5 antifungal drugs: results of a multicenter study conducted in São Paulo, Brazil, 1995-2003. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 57, n. 4, p. 399-404, apr. 2007.

MATTHIAS, L. A.; JOHNS, E. A. Tapping an Amazonian plethora: Four medicinal plants of Marajó Island, Pará (Brazil). **Journ. Ethnopharm.** v, 40, p. 53-75, 1993.

McGRAW, L.J.; JÄGER, A.K.; van STADEN, J. Antibacterial, anthelmintic and antiamoebic activity in South African medicinal plants. **Journ. Ethnoph.**, v.72, p.247-263, 2000.

McLNTYRE, G. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Rev. Quím. Nov.** v.25, n.3, p.429-38, 2002.

MELLADO, E.; CUENCA-ESTRELLA M.; RODRÍGUEZ-TUDELA J. L. Importancia clínica de los mecanismos de resistencia de los hongos filamentosos a los antifúngicos. **Enferm. Infec. Microbiol. Clin.** v. 20, p. 523-530. 2002.

MENDONÇA, A.P.; FERRAZ, I.D.K. Óleo de andiroba: processo tradicional da extração, uso e aspectos sociais no estado do Amazonas, Brasil. **Acta Amaz.**, v. 37, n.3, p.353-364. 2007

MENEZES, T. O. A.; et al. Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de *Candida albicans*. **Rev. Odont.** UNESP. n.38, v.3, p.184-91. 2009.

MORAES, B. A. et. al. Epidemiological analysis of bacterial strains involved in hospital infection in a university hospital from Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v.42, n 4, p. 201 – 207. 2000.

MUELLNER A. N. R; SAMUEL, R; JOHNSON, S, A.; CHEEK, M; PENNINGTON, T, D. Molecular phylogenetics of Meliaceae based on nuclear and plastid DNA sequences. **Amer. Journ. of Bot.** v. 90, p. 471-480, 2003.

NAKATANI, M. Limonoids from *Melia azedarach*. **Phytochem.**, v.43, n.3, p.581-583, 1996.

NCCLS. **Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras; Norma Aprovada.** 2 Ed. Document M27-A2 [ISBN 1-56238-469-4]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 Estados Unidos, 2002.

NEOFYTOS, D.; HORN, D.; ANAISSIE, E.; STEINBACH, W.; OLYAEI, A.; FISHMAN, J.; PFALLER, M.; CHANG, C.; WEBSTER, K.; MARR, K. Epidemiology and outcome of invasive fungal infection in adult hematopoietic stem cell transplant recipients: analysis of Multicenter Prospective Antifungal Therapy (PATH) Alliance registry. **Clin Infect Dis.**, v. 48, n. 3, p. 265-273, 2009.

NEUFELD, P. M.. **Caracterização taxonômica e susceptibilidade a antifúngicos de leveduras isoladas de infecção hospitalar.** Tese de Doutorado em Vigilância Sanitária do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária- Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Rio de Janeiro, 2009.

NEVES, O.S.C. et al. Crescimento, produção de matéria seca e acúmulo de N, P, K, Ca, Mg, e S na parte aérea de mudas de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) cultivadas em solo de várzea, em função de diferentes doses de fósforo. **Rev. Árv.** v.28, n.3, p.343-9, 2004.

NOBRE, M. O.; NASCENTE, P.S.; MEIRELES, M.C. FERREIRO, L. Drogas antifúngicas para pequenos e grandes animais. **Ciê. Rur.** v.32, n.1, p. 175-184, 2002.

NUCCI, M.; et al. Risk factors for death in patients with candidemia. **Infect. Control Hosp. Epidemiol.**, v. 19, p. 846-850, 1998.

NUCCI, M.; COLOMBO, A. L.; SILVEIRA, F.; RICHTMANN, R.; SALOMÃO, R.; BRANCHINI, M. L.; SPECTOR, N. Risk factors for death in patients with candidemia. **Infect. Control Hosp. Epidemiol.**, v. 19, p. 846-850, 1998.

NUCCI, M.; ANAISSIE, E. Revising the source of candidemia skin or gut? **Clin. Infect. Dis.**, v. 33, p. 1959-1967, 2001.

NUCCI, M.; PERFECT, J. R. When primary antifungal therapy fails. **Clin. Infect. Dis.** v. 46, n. 9, p. 426-433, 2008.

ODDS, F. C. Resistance of yeasts to azoles derivative antifungals. **Journ. Agents Chemot.**, v. 31, p. 463-471, 1993.

O'GRADY, N. P. O.; ALEXANDER, M.; DELLINGER, E. P.; GERBERDING, J. L.; HEARD, S. O.; MAKI, D. G.; MASUR, H.; MCCORNICK, R. D.; MERMEL, L. A.; PEARSON, M. L.; RAAD, I. I.; RANDOLPH, A.; WEINSTEIN, R. A. Guideline for prevention of intravascular catheter-related infections. **Clin. Infect. Dis.**, v. 35, p. 1281- 11307, 2002.

OLLIS, W. D.; WARD, A. D.; OLIVEIRA, H. M. DE; ZELNIK, R. **Andirobin, Tetrahedron**, n.7, 1637-1645. 1970

OLIVEIRA, R.D.R.; MAFFEI, C.M.L.; MARTINEZ, R. Nosocomial urinary tract infections by Candida species. *Rev. Assoc. Méd. Bras.*, v.47, n.3, p.231-235, 2001.

ORAL CANDIDOSIS. **Dent. Updat.**; v. 28, p. 132-139. 2001

ORELLANA, B.J.P.; KOBAYASHI, E.S.; LOURENÇO, G.M. Terapia Alternativa através do uso da andiroba. **Lat. & Senso.** v.5, n.1, p.135-141, 2004

OSTROSKY-ZEICHNER, L.; REX, J. H.; BENNETT, J.; KULLBERG, B. J. Deeply invasive candidiasis. **Infect. Dis. Clin. North Am.**, v. 16, p. 793-820, 2002.

/

- PASQUALOTTO, A.C. et al. Candidaemia and cancer: patients are not all the same. **BMC Infect. Dis.** n. 6, p.50, 2006.
- PAUW, B. E.; PICAZO, J. J. Present situation in the treatment of invasive fungal infection. **Int. Jour. Antimicrob. Agents.**, v. 32, Suppl. 2, p. S167-S171, 2008.
- PENIDO, C.; COSTA, K. A., PENNAFORTE, R. J.; COSTA, M. F.; PEREIRA, J. F.; SIANI, A. C.; HENRIQUES, M. G. Anti-allergic effects of natural tetranortriterpenoids isolated from *Carapa guianensis* Aublet on allergen-induced vascular permeability and hyperalgesia. **Inflamm. Res.** n. 54, p. 295-303. 2005.
- PENNINGTON, T. D.; STYLES, B. T.; TAYLOR, D. A. H. **Meliaceae.** Flora Neotropica Monograph, n.28, 470 p. 1981
- PERFECT, J. R. Antifungal resistance: the clinical front. **Oncol.** (Williston Park), v.18, n. 14, Suppl. 13, p. 15-22, 2004.
- PERLROTH, J.; CHOI, B.; SPELLBERG, B. Nosocomial fungal infections: epidemiology, diagnosis, and treatment. **Med. Mycol.**, v. 45, n.4, p. 321-346, 2007.
- PETRI, M. G.; KÖNIG, J.; MOECKE, H. P.; GRAMM, H. J.; BARKOW, H.; KUJAH, P.; DENNHART, R.; SCÄFER, H.; MEYER, N.; KALMAR, P.; THÜLIG, P.; MÜLLER, J.; LODE, H. Epidemiology of invasive mycosis in icu patients: a prospective multicenter study in 435 non-neutropenic patients. **Intensive Care Med.**, v. 23, p. 317-325, 1997.
- PFALLER, M. A. Epidemiology and control of fungal infections. **Clin. Infect. Dis.**, v. 19 (Suppl. 1), p. S8-13, 1994.
- PFALLER, M. A. Epidemiology of candidiasis. **J. Hosp. Infect.**, v. 30 (Suppl.), p. 329-338, 1995.
- PFALLER, M. A.; JONES, R. N.; DOERN, G. V.; SADER, H. S.; HOLLIS, R. J.; MESSER S. A. International surveillance of bloodstream infections due to *candida* species: frequency of occurrence and antifungal susceptibilities of isolates collected in 1997 in the united states, canada, and south america for the SENTRY program. **J. Clin. Microbiol.**, v. 36, n. 7, p. 1886-1889, 1998.

PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J.; JONES, R. N.; SADER, H. S.; FLUIT, A. C.; HOLLIS, R. J.; MESSER, S. A.; SENTRY PARTICIPANT GROUP. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial surveillance program. **J. Clin. Microbiol.**, v. 39, n. 9, p. 3254-3259, 2001.

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

PIMENTA, D. O. M. M. Avaliação *in vitro* da Atividade Antifúngica e Antibacteriana de Extratos de *Pothomorphe umbellata* e *Struthantus* sp e Análise da Expressão Proteica. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia)- Universidade de Ribeirão Preto. Ribeirão Preto, 2008.

PINTO, A.C.; SILVA, D.H.S.; BOLZANI, V.S.; LOPES, N. P.; EPAFANIO, L. A. Produtos Naturais Atualidades, desafios e perspectivas. **Quim Nov.** v. 25, n.1, p. 45-61, 2002.

PINTO, F. C. L.; UCHOA, D. E. A.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L.; BRAZ-FILHO, R.; SILVA, F. M.; THEODORO, P. N. E. T.; ESPÍNDOLA, L. S. Glicoalcaloides Antifúngicos, flavonoides e outros constituintes químicos de *Solanum asperum*. **Quim. Nov.**, v. 34, n. 2, p. 284-288, 2011

PLOWDEN, C. The Ecology and harvest of andiroba seeds for oil production in the Brazilian Amazon. **Conservat. Soc.**, Bangalore, v. 2, n. 2, p. 251-270, Mar. 2004.

REVILLA, J. Plantas da Amazônia: Oportunidades Econômicas e Sustentáveis- Programa de Desenvolvimento Empresarial e Tecnológico. Manaus, 2000.

RICHARDSON, M. D. Changing patterns and trends in systemic fungal infections. **Jour. Antimicrob. Chemother.**, v. 56 (Suppl. S1), p. i5-i11, 2005.

ROSA, F. G.; GARAZZINO, S.; PASERO, D.; DI PERRI, G.; RANIERI, V. M. Invasive candidiasis and candidemia: new guidelines. **Minerv. Anestesiol.**, v. 75, p. 1-6, 2008.

RUHNKE, M.; MASCHMEYER, G. Management of mycosis in patients with hematologic disease and cancer – review of the literature. **Eur. Jour. Med. Res.**, v. 7, p. 227-235, 2002.

SAFDAR, A.; BANNISTER, T. W.; SAFDAR, Z. The predictors of outcome in immunocompetent patients with hematogenous candidiasis. **Int. J. Infect. Dis.**, v. 8, n. 3, p. 180-186, may 2004.

SAMPAIO, P. de T. B. **Andiroba (*Carapa guianensis*)**. In: Biodiversidade Amazônica: exemplos e estratégias de utilização. Manaus: Programa de Desenvolvimento Empresarial e Tecnológico. p. 243-251. 2000.

SANGLARD, D. Clinical relevance of mechanisms of antifungal drug resistance in yeast. **Enferm. Infecç. Microbiol. Clin.**, v. 20, n. 9, p. 462-470, 2002.

SCARANO, F. R.; PEREIRA, T. S.; RÔÇAS, G. Seed germination during floatation and seedling growth of *Carapa guianensis* a tree from flood-prone forests of the Amazon. **Plant Ecol.**, Amsterdam, v. 168, p. 291-296. Sept. 2003.

SCHELENZ, S. Management of candidiasis in the intensive care unit. **Journ. Antimicrob. Chemother.**, v. 61, Suppl. 1, p. i31-i34, 2008.

SEGAL, B. H; FREIFELD, A. G. Antibacterial prophylaxis in patients with neutropenia. **J. Natl. Compr. Canc. Netw.**, v. 5, n. 2, p. 235-242, feb. 2007.

SEJAS, L. ; SILBERT, S. ; REIS, A. O. ; SADER, H. S. Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. **Jorn. Bras. Patol. Med. Laborat.** v. 39, n. 1, p. 27-35, 2003.

SHANLEY, P. Andiroba (*Carapa guianensis*, Aublet.). In: SHANLEY, P.; MEDINA, G. **Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica**. Belém: Cifor, p.41-50. , 2005

SHANON, C.A., SORREL, T.C. Antifungal agents. **The Medic. Journ. of Austrau.** v. 187, p.404-409, 2007.

SIDRIM, J.C.; MOREIRA, J.L.B. **Fundamentos Clínicos e Laboratoriais da Micologia Médica**. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro: 1999

SILVA, M.R.R.; PAULA, C.R.; SILVA, S.C. Drug resistance of yeasts isolated from oropharyngeal candidiasis in AIDS patients. **Braz. Journ. Microb.** v. 29, n. 4, 1998.

SILVA, O. S.; ROMAO, P. R.; BLAZIUS, R. D.; PROHIRO, J. S. The use of andiroba *Carapa guianensis* as larvicide against *Aedes albopictus*. **Journ. Am. Mosq. Control. Assoc.** n. 20, p.456-7, 2004.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: **farmacognosia da Planta ao Medicamento**. Porto Alegre/ Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2003.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia, da planta ao medicamento**. Porto Alegre: editora UFRGS, 2007.

SIMS, C. R.; OSTROSKY-ZEICHNER, L.; REX, J. H. Invasive candidiasis in immunocompromised hospitalized patients. **Arch. Med. Res.**, v. 36, n. 6, p. 660-671, 2005.

SOUZA, C. A. S. et al. Atividade antimicrobiana de *Tagetes Minuta L. Compositae* (Chinchilho) Frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. **Braz. Jour. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 37, n. 6, 2000.

SWINNE, D.; et al. Bloodstream yeast infections: a 15-month survey. **Epidemiol. Infect.**, v. 12, p. 1-4, 2009.

TAKEYA, K.; QIAO, Z.; HIROBE, C.; ITOKAWA, H. Cytotoxic trichilin-type timonoids from *Melia azedarach*. **Bioorg. Medic. Chem.**, v.4, n.8, p.1355-1359, 1996.

THAWEBOON, S.; THAWEBOON, B.; SRITHAVAJ, T.; CHOONHARUANGDEJ, S. Oral colonization of *Candida* species in patients receiving radiotherapy in the head and neck area. **Quintess. Int.**, v. 39, n. 2, p. e52-e57, feb. 2008.

THEODORO, P.N.E.T. Atividade *in vitro* de Plantas da Medicina Tradicional do Cerrado em Dermatófitos e Leveduras. Dissertação de Mestrado- Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Brasília. 2009.

TIRABOSCHI, I. N.; BENNETT, J. E.; KAUFFMAN, C. A.; REX, J. H.; GIRMENIA, C.; SOBEL, J. D.; MENICHETTI, F. Deep *Candida* infections in the neutropenic and nonneutropenic host: an ISHAM symposium. **Med. Mycol.**, v. 38, Suppl. 1, p. 199-204, 2000.

TORTORA, G.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. São Paulo, 2003.

VAN ASBECK, E. C.; HUANG, Y. C.; MARKHAM, A. N.; CLEMONS, K. V.; STEVENS, D. A. *Candida parapsilosis* fungemia in neonates: genotyping results suggest healthcare workers hands as source, and review of published studies. **Mycopathologia**, v. 164, n. 6, p. 287-293, dec. 2007.

VARGAS, A. C.; LOGUERCIO, A. P.; WITT, N. M.; COSTA M. M.; SILVA, M. S.; VIANA, L. R. Atividade Antimicrobiana "in vitro" de Extrato Alcoólico de Própolis. **Rev. Ciênc. Rur.** v.34, n. 1, p. 159-163, 2004.

VEIGA JR, V. F. ; PINTO, A. C. ; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: Cura segura? Rev. **Quím. Nov.** v. 28, n. 3, p. 519-528. 2005.

VELASCO, E.; BIGNI, R. A prospective cohort study evaluating the prognostic impact of clinical characteristics and comorbid conditions of hospitalized adult and pediatric cancer patients with candidemia. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 27, n. 11, p. 1071-1078, nov. 2008.

VIEGAS-JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Quím. Nov.**, v.26, p.390-400, 2003.

VILANOVA, M.; CORREIA, A. Host defense mechanisms in invasive candidiasis originating in the GI tract. **Expert Rev. Anti. Infect. Ther.** v. 6, n. 4, p. 441-445, 2008.

VINCENT, J. L.; ANAISSIE, E.; BRUINING, H.; DEMAJO, W.; EL-EBIARY, M.; HABER, J.; HIRAMATSU, Y.; NITENBERG, G.; NYSTROM, P. O.; PITTET, D.; ROGERS, T.; SANDVEN, P.; SGANGA, G.; SCHALLER, M. D.; SOLOMKIN, J. Epidemiology, diagnosis and treatment of systemic *candida* infection in surgical patients under intensive care. **Intens. Car. Med.**, v. 24, n. 3, p. 206-16, 1998.

VINSON, C. C; AZEVEDO, V. C. R; SAMPAIO, I; CIAMP, A. Y. Development of microsatellite markers for *Carapa guianensis* (Aublet), a tree species from the Amazon forest. **Mol. Ecol.** v.5, n.3, p. 33-34. 2005.

YUNES, R.A.; FILHO, V.C. Breve Análise Histórica da Química das Plantas Medicinais: Sua importância na Atual Concepção de Fármaco Segundo os Paradigmas Ocidental e Oriental. In: YUNES, R.A. E CALIXTO, J.B. **Plantas Medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos, 2001.

YUNES, R.A. CALIXTO, J.B. **Plantas Medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos, 2001.

WENZEL, R. Nosocomial candidemia: risk factors and attributable mortality. **Clin. Infect. Dis.**, v. 20, p. 1531-1534, 1995.

WHITE, T.C.; KIEREN, A.M.; BOWDEN, R.A. Clinical, cellular and molecular factor that contribute to antifungal drug resistance. **Clin. Microbiol. Revie.** v.11, p. 382-402. 1998.

WILLIAMS, D.A.; LEMKE, T.L. **Foye's Principles of Medicinal Chemistry**. 5 ed. Philadelphia: Lippincot William's & Wilkins. 2002.

WISPLINGHOFF, H.; BISCHOFF, T.; TALLENT, S. M.; SEIFERT, H.; WENZEL, R. P.; EDMOND, M. B. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. **Clin. Infect. Dis.**, v. 39, n. 3, p. 309-317, aug. 2004.

ZACCHINO, S. Estratégia para a descoberta de novos agentes antifúngicos. In: YUNES, R.A. E CALIXTO, J.B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos. p. 435-479. 2001.

ZEPELIN BORG-VON, M.; KUNZ, L.; RÜCHEL, R.; REICHARD, U.; WEIG, M.; GROSS, U. Epidemiology and antifungal susceptibilities of *Candida* spp. to six antifungal agents: results from a surveillance study on fungaemia in Germany from July 2004 to August 2005. **Journ. Antimic. Chemot.**, v. 60, p. 424-428, 2007.

ANEXO



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

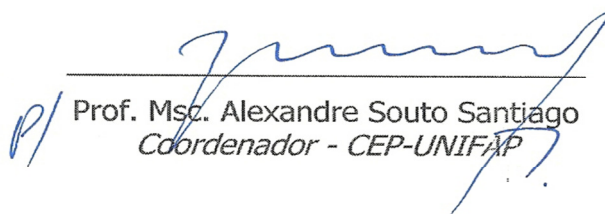
CERTIFICADO

Certificamos para os devidos fins que o Protocolo sobre "**Determinação *in vitro* da atividade antifúngica do óleo de *Carapa guianensis* em cepas de *Candida sp.***", sob a responsabilidade de **Ferlana Dylana dos Santos Oliveira**, não se enquadra na classificação de protocolos que envolvem ser humano ou animais como objeto de pesquisa, portanto não é necessário aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP).

CERTIFICATE

We certify that the protocol about "**Determinação *in vitro* da atividade antifúngica do óleo de *Carapa guianensis* em cepas de *Candida sp.***", **Ferlana Dylana dos Santos Oliveira** is not included in the classification of protocols involving humans or animals as research theme, so do not need approval by the Universidade Federal do Amapá (UNIFAP) – Ethical Committee for Research (CEP).

Macapá, 24 de outubro de 2011


Prof. Msc. Alexandre Souto Santiago
Coordenador - CEP-UNIFAP