

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DO CERRADO  
PATROCÍNIO  
Graduação em Ciências Biológicas**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO AQUOSO  
DE *STRYPHNODEDRON ADSTRINGENS* (MART.) COVILLE FRENTE À  
*CANDIDA SP.***

FRANCYELE NOGUEIRA

**PATROCÍNIO-MG  
2017**

**FRANCYELE NOGUEIRA**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO AQUOSO  
DE *STRYPHODENDRON ADSTRINGENS* (MART.) COVILLE FRENTE À  
*CANDIDA SP.***

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado como exigência parcial para  
obtenção do grau de Bacharelado em  
Ciências Biológicas, pelo Centro  
Universitário do Cerrado Patrocínio.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Esp. Crislaine M.  
Batista Oliveira

Co-orientador: Dr. Wagner Antônio  
Bernardes

**PATROCÍNIO-MG  
2017**

Trabalho de conclusão de curso intitulado “*Avaliação da atividade antifúngica do extrato aquoso de Stryphnodendron adstringens (MART.) coville frente à candida sp.*”, de autoria da graduanda Francyele Nogueira, aprovada pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

---

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Esp. Crislaine M. Batista Oliveira  
Instituição: UNICERP

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lilian Cristina Barbosa  
Instituição: UNICERP

---

Prof<sup>a</sup>. Ms. Rafaela Cabral Marinho  
Instituição: UNICERP

Data da aprovação \_\_/\_\_/\_\_

Patrocínio \_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

**DEDICO** este estudo aos meus parentes pelo apoio e compreensão, juntamente com meus amigos, dedicando também em especial a Claudio José da Silva e aos meus mestres, por todo empenho para que este projeto fosse concretizado.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades. Ao meu marido Claudio José da Silva pelo seu imenso incentivo, paciência e compreensão nos momentos de dedicação da realização deste trabalho.

A esta universidade, seu corpo docente, direção e administração que oportunizaram a janela que hoje vislumbro um horizonte superior, vindo pela acendrada confiança no mérito e ética aqui presente, e, em especial a Prof<sup>a</sup>. Esp. Rosângela de Oliveira Araújo pela a identificação da planta.

De forma especial agradeço aos meus orientadores: Prof<sup>a</sup>. Esp. Crislaine M. Batista Oliveira e Dr. Reitor Wagner Antônio Bernardes, pelo suporte no pouco tempo que lhes coube, pelas suas correções e incentivos.

Aos meus familiares e amigos, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

E a todos que direta, ou indiretamente fizeram parte da minha formação o meu muito obrigado.

*“O que não dá prazer não dá proveito. Em resumo, senhor, estude apenas o que lhe agrada.”*

William Shakespeare

## RESUMO

O fungo *Candida sp.* é um microorganismo comensal que faz parte da flora do organismo humano sem causar nenhum prejuízo a sua saúde, mas, podendo tornar-se patogênico devido há alguns fatores predisponentes. A fitoterapia está sendo estudada para descobrir melhores tratamentos alternativos e menos invasivos para os pacientes. Sendo assim o trabalho tem como por objetivos avaliar a capacidade de controle da *Candida sp.* por meio do uso de extrato aquoso de *Stryphnodendron adstringens (MART.) coville* nas concentrações de: 1g, 5g, 10g, 15g e 20g do pó da planta adicionados a 100 ml de água destilada e deionizada, montagem de antifungiograma para averiguar se o extrato aquoso apresenta ação inibitória ao fungo *Candida sp.* nas cinco concentrações em estudo e análise com qual concentração mínima o extrato apresenta-se eficiente. E mediante isso, fez-se a utilização do extrato aquoso da planta embebidos em discos de papel colocados em placas de petri, contendo Ágar Mueller-hinton, onde o fungo foi semeado. De acordo com as observações do experimento não houve formação de halos de inibição em nenhuma das concentrações nas análises de 24 e 48 horas de incubação.

**Palavras-chave:** *Candida albicans*. *Stryphnodendron adstringns*. Extrato aquoso. Barbatimão.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	8
<b>2 OBJETIVO</b> .....	10
2.1 Objetivo geral .....	10
2.2 Objetivos específicos .....	10
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	11
3.1 Candida albicans.....	11
3.2 Fatores predisponentes .....	13
3.3 Stryphnodendron adstringens .....	14
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	17
4.1 Material botânico.....	17
4.2 Microrganismos utilizados nos ensaios.....	18
4.3 Materiais utilizados.....	18
4.4 Preparação do meio de cultura .....	19
4.5 Preparação do extrato aquoso .....	19
4.6 Preparo da suspensão fúngica e montagem do experimento .....	20
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	22
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	26
<b>7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	27

## 1 INTRODUÇÃO

A *Candida sp.* é um fungo visualizado microscopicamente na forma de hifas e células leveduriformes. A espécie mais comum é a *Candida albicans*, que é um fungo comensal, ou seja, estão presentes na flora normal de crianças, idosos, homens e mulheres sem causar nenhuma doença. A grande prevalência de candidúria que é a presença da espécie *Candida albicans* na urina do ser humano, onde sua contaminação pode ser assintomática ou não, ocorrendo o seu crescimento que é responsável por cerca de 60% a 70% dos isolados clínicos diagnosticados (CARVALHO, 2003; HOLANDA et al., 2007; COLOMBO e GUIMARÃES, 2007).

Os fungos do gênero *Candida* podem deixar de ser comensal para se tornar patogênico, ou seja, os fungos do gênero em questão vão começar a causar infecções e micoses no corpo do ser humano, causando danos e prejuízos a saúde do mesmo. Estes danos estão relacionados principalmente com as práticas inadequadas de higiene pessoal, sendo este caso, comum em crianças e idosos que às vezes não conseguem ter uma boa higiene autônoma das partes íntimas, algumas mulheres que fazem o uso de duchas higiênicas - sendo assim uma higiene de forma exagerada. Indivíduos com problemas de imunidade, doenças de base, uso excessivo e/ou demasiadamente errado de antifúngicos e de outros medicamentos, uso de roupas íntimas justas - e até mesmo higienizadas de forma errônea - e de material sintético, sendo também o estresse do dia-a-dia, grandes contribuintes para os fatores de predisposição que levam a patogenicidade da *Candida* (RIBEIRO et al., 2009; BARBEDO e SGARBI, 2010).

Segundo Alvares et al. (2007) a *Candida sp.* apresenta uma ampla distribuição, pois a mesma consegue ocupar vários nichos corporais, como por exemplo, na urina rotineira, urocultura, fezes, secreções vaginais, no exame a fresco, orofaringe, cavidade bucal, dobras da pele e secreções brônquicas.

Deve-se levar em consideração que além de *Candida albicans*, existem outras espécies de *Candida* que também são comensais no organismo humano, podendo

também se tornar patogênicas, e já são isoladas clinicamente com maior frequência como a *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* entre outras (BARBEDO e SGARBI, 2010).

Rotineiramente em laboratórios de análises clínicas são diagnosticados inúmeros casos de Candidíase. E para tratar esta infecção são usados medicamentos antifúngicos, dos quais incluem atualmente os imidazóis (cetoconazol), triazóis (fluconazol e itraconazol) e alilamina (terbinafina). Possuem alta toxicidade e pouca eficiência em alguns casos onde o fungo em estudo apresenta resistência aos antifúngicos (ZARPELON et al., 2014). Atualmente, tem aumentado os números de estudos para melhores tratamentos alternativos e menos invasivos para esta infecção. Uma das alternativas que está sendo mais utilizada é a fitoterapia. Tratamento feito por meio de plantas com propriedades medicinais.

O bioma cerrado é riquíssimo em diversidade de plantas que apresentam propriedades medicinais, por isso apresenta-se a importância da preservação deste bioma que possui grande extensão no território brasileiro. A planta *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, da família Fabaceae, é popularmente conhecida como barbatimão, muito bem distribuída pelo bioma e bastante utilizada na medicina popular devido ao grande número de benefícios trazidos por ela (BORGES-FILHO e FELFILI, 2003). E a substância chamada de tanino é a responsável pelos benefícios de *Stryphnodendron adstringens*, e a quantidade da concentração de taninos de um indivíduo para outro varia de acordo com algumas condições, como por exemplo, a localização geográfica, clima e tipo de solo (CASTRO et al., 2009; RODRIGUES et al., 2013).

De acordo com ISHIDA et al. (2006) o extrato bruto de *Stryphnodendron adstringens* na subfração F2.4 na proporção a partir de 7,80mg/L apresentou resultados semelhantes ao da nistatina, quanto a inibição do crescimento da *Candida albicans*.

Sendo assim, estudos que visem avaliar as atividades antifúngicas do extrato aquoso de *Stryphnodendron adstringens* em várias localidades e em épocas diferentes para detectar a melhor condição da planta é de suma importância, como uma alternativa a mais no tratamento de infecções fúngicas e com menor agressão ao paciente (BARBEDO e SGARBI, 2010; PINHO et al., 2011).

## 2 OBJETIVO

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar a capacidade de controle da *Candida sp.* por meio do uso de extrato aquoso de *Stryphnodendron adstringens*. Serão analisadas cinco concentrações, das quais são: 1g, 5g, 10g, 15g e 20g do pó da planta *Stryphnodendron adstringens* adicionados a 100 ml de água destilada e deionizada.

### 2.2 Objetivos específicos

- Observar como se comporta o fungo em questão quando submetido ao contato com a substância da espécie de planta em estudo.
- Montagem de antifungiograma para averiguar se o extrato aquoso apresenta ação inibitória ao fungo *Candida sp.* nas cinco concentrações em estudo.
- Analisar com qual concentração mínima o extrato aquoso se mostra eficiente.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 *Candida albicans*

O fungo da espécie *Candida albicans* está presente no organismo dos seres vivos, principalmente o do ser humano, apresentando uma relação comensal ou parasitária. É um microorganismo que explora vários nichos corporais e está presente na mucosa bucal, tratos geniturinário e gastrointestinal do organismo humano, podendo também ser visualizada na urina e nas fezes (MOLINARO et al., 2009).

Além do fungo *Candida albicans*, que é o mais importante em relação de patógenos oportunistas, dentro do gênero *Candida*, é a espécie que apresenta a maior incidência de material clínico isolado. Já foram descritas mais de 100 espécies de *Candida*, porém são poucas que causam danos à saúde provocando infecções (MURRAY et al., 2009).

No caso da espécie *Candida albicans*, a sua morfologia é de dimorfismo invertido, apresentando forma de visualização de hifas e/ou levedura. E de uma forma de visualização ela consegue se alterar para outra em um único ambiente. Essa é uma característica predominante da espécie *C. albicans*, sendo que outras espécies deste gênero não apresentam essa característica (BARBEDO e SGARBI, 2010).

A morfologia das demais espécies de *Candida* é complexa, apresentando-se nas formas de levedura no estado saprofítico que esta associada à colonização assintomática. E na forma filamentosa, sendo também assim caracterizada como pseudo-hifas e hifas verdadeiras, e, é nesta forma que ocorre a patogenicidade. Estes fungos podem ser caracterizados como pleomórficos, pois podem ocorrer a formação de clamidósporos, ou seja, pode ocorrer a formação de esporos arredondados que possuem uma camada de parede celular espessa. E com isso os

fungos conseguem se adaptar em qualquer nicho biológico, além de que a presença de esporos facilita a sua proliferação e contaminação (ALVARES et al., 2007).

A *Candida sp.* também pode ser encontrada na forma de leveduras juntamente com a presença de hifas, comum em exames de urina de rotina de pacientes que apresentam a mesma em seu organismo de forma aumentada (SILVA et al., 2014).

Em meios de cultura, com a exceção da *C. glabrata*, as demais *Candida* podem sofrer alterações no fenótipo variando de células leveduriformes para hifas. Em forma de leveduras é nítida a presença de colônias esbranquiçadas, lisas e cremosas; já na forma de hifas e pseudo-hifas por meio de brotamentos as colônias apresentam aspecto de “felpudas” ou “cabeludas” (MURRAY et al., 2009).

No Brasil, a maior incidência de contaminação fúngica do Gênero *Candida* é causada pela espécie *C. albicans* com frequência de 35% a 70%, e, em seguida *C. tropicalis* de 5% a 52% e *C. glabrata* de 7% a 9% dos casos diagnosticados (HOLANDA et al., 2007; SILVA et al., 2014).

Em amplitude maior, espécies de *Candida* que não eram patogênicas já estão tornando, exemplo disso são as espécies *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* além das demais existentes como *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis* (MURRAY et al., 2009).

O tratamento de infecções fúngicas é demorado e difícil. Usam-se medicamentos antifúngicos para combater as micoses, dos quais incluem atualmente os imidazóis (cetoconazol), triazóis (fluconazol e itraconazol) e alilamina (terbinafina). Possuem alta toxicidade e pouca eficiência em alguns casos onde o fungo em estudo apresenta resistência aos antifúngicos. Há a carência de estudos para desenvolvimento de novos medicamentos e/ou tratamentos (ZARPELON et al., 2014).

Infelizmente, ocorre à manipulação destes medicamentos de maneira errônea, e com isso vem resultando no surgimento de populações de fungos resistentes à medicação, por exemplo: espécie de *Candida*, em geral, torna-se resistentes à droga, não podendo os pacientes ser tratados com qualquer um dos agentes antifúngicos de uso rotineiro por não apresentar eficácia contra o fungo no organismo (MADIGAN et al. 2004).

### 3.2 Fatores predisponentes

Os fungos em sua totalidade de espécies são comensais, e, essa característica também é atribuída aos fungos do gênero *Candida*. Mas, apesar de ser um fungo comensal também pode se tornar patogênico. E sua patogenicidade se dá por diversos fatores (ALVARES et al., 2007).

Um dos fatores inclui-se a má higienização das partes íntimas, este fator contribui em quadros infecciosos de pacientes, pois a falta de higienização contribui para a proliferação deste microorganismo na área vulvovaginal. No caso da contaminação da área vaginal é devido pelo sentido que é feita a limpeza do ânus. O sentido ânus a vagina é a forma errada, pois pode haver a contaminação da área vaginal e proliferação da *Candida*, vagina para ânus é o sentido correto (HOLANDA et al., 2007). Crianças e idosos estão suscetíveis a este fator, todavia, na grande maioria das vezes não conseguem ter uma boa higiene íntima (BARBEDO e SGARB, 2010).

Os antibióticos são grandes aliados para combater infecções bacterianas, mas, por outro lado, ao combater a excessiva flora bacteriana, dar-se a oportunidade da *Candida* se reproduzir de forma excessiva. A mesma possuindo menor disputa de espaço dentro do organismo do hospedeiro terá melhores condições de reprodução e iniciando um quando infeccioso fúngico (BARBEDO e SGARB, 2010).

Quando se trata de pacientes com sistema imune debilitado, tem-se o caso de pacientes que são portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV), onde a resposta imune feita por células está comprometida, e, conseqüentemente não conseguem ter o bom funcionamento do sistema imunológico, ficando suscetíveis a infecções fúngicas. Além do HIV, a baixa no sistema imune também se dá por situações de estresse que os indivíduos são submetidos no dia-a-dia. E há a existência de pacientes imunossuprimidos, ou seja, possui o sistema imunológico frequentemente fragilizado, sendo este último mais um fator predisponente para se contrair uma infecção fúngica (ALVARES et al., 2007; BARBEDO e SGARB, 2010).

A nutrição dos fungos, inclusive os da espécie *Candida sp.* é especialmente os carboidratos em geral. Este tipo de nutriente está entre um dos mais consumidos da espécie humana. No entanto, em alguns casos de pacientes que sofrem de infecção fúngica causada pela espécie *Candida sp.* pode estar associada pela ingestão deste nutriente (ALVARES et al., 2007; HOLANDA et al., 2007). Pacientes que são portadores de *diabetes mellitus* possuem grandes chances de terem algum episódio de candidíase, pois esta doença eleva os níveis de glicogênios no sangue (SILVA et al., 2014; FIGUEIREDO et al., 2010).

Pessoas que passaram por algum tipo de procedimento hospitalar, como por exemplo, um grande período de internação, entubação, transplantes e até mesmo uso de cateteres estão com maior chance de suscetibilidade para contrair uma infecção fúngica causada por *Candida sp.* (BARBEDO e SGARB, 2010; SILVA et al., 2014).

### 3.3 *Stryphnodendron adstringens*

A espécie *Stryphnodendron adstringens* conhecida popularmente como barbatimão, é a espécie com maior nível de disseminação se comparado com as outras espécies deste mesmo gênero. Pode ser encontrada nas seguintes regiões brasileiras: Norte, Nordeste e Sudeste (MATOS et al., 2011). Abrange várias fitofisionomias do bioma Cerrado, sendo elas, Cerrado típico, Campo-sujo e Cerradão (GLASENAPP et al., 2014).

É uma árvore que possui um porte de quatro a cinco metros de altura em média, mas já houve relatos de indivíduos com 30m e apresenta uma casca rugosa, característica típica de Cerrado. A madeira de Barbatimão é utilizada para vários fins, pois é pesada, dura e resistente a chuva e o sol (GLASENAPP et al., 2014). Suas folhas apresentam coloração verde de tom corado, compostas, bipinadas com folíolos relativamente grandes e alvacentos agrupadas em ramos axilares. A pigmentação do fruto é de cor castanho-escura e em forma de vagem medindo de

10 a 13 cm de comprimento (MATOS et al., 2011).



**Fonte: Francyele Nogueira**

*S. adstringens* possui um alto extrativismo por apresentar vários benefícios medicinais, os quais se pode citar o controle da cicatrização de ferimentos, o tratamento da malária, febre, afecções hepáticas, diarreias, hemorragias, uretrites, na atuação como excelente agente antiinflamatório, anticéptico, anti-micótico e antifúngico (OLIVEIRA e FIGUEIREDO, 2007).

Os benefícios estão vinculados à presença de taninos em sua casca, cerca de 20% a 50%. O valor da quantidade desta substância vai variar de acordo com o clima, com o solo, localização geográfica e a parte extraída da árvore (CASTRO et al., 2009; RODRIGUES et al., 2013).

O material extraído da planta para a obtenção de taninos é a entrecasca, e essa obtenção de taninos é vinculada a preparações de extratos da planta *Stryphnodendron adstringens*. Existem vários tipos de extratos como, por exemplo: o extrato glicólico, hidroglicólico, alcoólico e aquoso. Sendo este último mais viável pela rapidez, facilidade e baixo custo de preparação. Mas para extratos de plantas, vale também para *Stryphnodendron adstringens*, não é viável o consumo oral, pois pode apresentar altas taxas de toxicidade (LORENZI e MATOS, 2002; GLEHN e RODRIGUES, 2012; MAZZAFERA, 2003).

Outra forma de uso é o chá, o qual também não deve ser consumido de forma oral. O chá em uso externo é recomendado para hemorragias no útero, úlceras em geral e em peles muito oleosas. No caso do consumo oral tem-se uma preparação segura e adequada. A manipulação caseira do chá para o consumo oral dá-se da seguinte forma: usando-se duas colheres de sopa da casca picada com uma xícara de chá de álcool de cereais a 50%, deixa-se em maceração por três dias e o recomendado é tomar uma colher de café do líquido filtrado com um pouco de água no período de três dias. Esse preparo é indicado para inflamação da garganta, diarreia e corrimento vaginal (LORENZI e MATOS, 2002 apud GLEHN e RODRIGUES, 2012).

O extrativismo da casca de *S. adstringens* feito de forma convencional não possui critérios de coleta adequados trazendo vários prejuízos para a planta, como a sua morte. Outro grande problema é o desmate em áreas de Cerrado, eliminando este Bioma e conseqüentemente indivíduos da espécie de *S. adstringens* (GLASENAPP et al., 2014).

Para uma coleta mais eficiente e sem agressão a árvore tem alguns critérios a serem seguidos. A extração da casca deve ser feita em indivíduos mais velhos e nas partes mais altas para preservar o tronco principal. A profundidade do corte deve ser o suficiente para atingir o lenho, por isso o uso de material cortante é indispensável (RODRIGUES et al., 2013)

*S. adstringens* possui várias outras substâncias de origem de seu metabolismo secundário, como por exemplo: os alcalóides, terpenos, estilbenos, esteróides, saponinas, inibidores de proteases e o principal em estudo, o tanino (RODRIGUES et al., 2013). Os taninos são substâncias encontradas no vacúolo dos vegetais e são denominados como substâncias polifenólicas (CASTRO et al., 2009). Dentro dos taninos é possível encontrar outras substâncias como catequinas que são as epigalocatequinas, prodelfinidinas, prorobinetinidinas e antocianidinas (MATOS et al., 2011).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Material botânico

As partes da entrecasca da espécie vegetal *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville foram coletadas no mês de Abril de 2016, no município de Patrocínio, localizado na porção oeste do Estado de Minas Gerais, na zona fisiográfica do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba. A confirmação da identificação dos vegetais foi realizada com a colaboração da Prof<sup>a</sup> Esp. Rosângela de Oliveira Araújo, docente do Centro Universitário do Cerrado Patrocínio (UNICERP) e as exsicatas foram depositadas no Herbário do Centro Universitário do Cerrado Patrocínio (UNICERP).



Fonte: Francyele Nogueira

## 4.2 Microrganismos utilizados nos ensaios

Para a determinação da atividade antifúngica do extrato aquoso foi utilizado o fungo de natureza selvagem com suas identificações confirmadas de *Candida sp.* sugestivo de *Candida albicans* que possui forma de visualização em levedura e hifas verdadeiras fornecida pelo Laboratório Clínico Santos.

## 4.3 Materiais utilizados

Para a realização do experimento foram utilizados os seguintes materiais previamente esterilizados por autoclave.

- Água destilada e deionizada (usada para preparar o extrato e também usada na preparação do meio de cultura).
- Placas de petri (usadas para colocar o meio de cultura e posteriormente fazer o processo de semear a *Candida sp.*).
- Discos de papel (foram embebidos com o extrato aquoso e posteriormente colocados nas placas previamente semeadas com o fungo *Candida sp.*).
- Pinças (utilizadas para inocular os discos de papel nas placas).
- Ponteiras (utilizadas no auxílio para embeber os discos de papel).
- Tubos de ensaio (usados para embeber os discos de papel com o extrato)
- Becker (foi usado para acondicionar o extrato após o preparo).

Além dos materiais citados acima foi usado swabs estéreis, soro fisiológico com embalagem lacrada e o filtro Millipore® 0,22 µm também estéril. Os materiais submetidos à esterilização sofreram esse processo em um período de 24 horas de antecedência da realização do experimento.

#### **4.4 Preparação do meio de cultura**

O meio de inoculação foi preparado utilizando o padrão de 34 gramas do meio de cultura para 1000 mililitros de água destilada, acontecendo à diluição, seguida pela esterilização por meio de autoclave e por fim este é colocado nas placas de petri também esterilizadas, sendo assim então o Ágar Mueller-hinton utilizado no experimento. Seguido este método, as placas foram lacradas por meio de papel filme e utilizadas no dia seguinte. Ressaltando-se ainda, que este procedimento, foi realizado num período de 24 horas, antecedendo o experimento.

#### **4.5 Preparação do extrato aquoso**

Após a coleta e em seguida o corte da casca em pedaços menores o material vegetal foi submetido à secagem em jornal, à sombra e em estufa do Herbário do Centro Universitário do Cerrado Patrocínio (UNICERP) em temperatura de mais ou menos 40 a 50 °C de circulação forçada, em anexo 3. Estando as cascas secas, as mesmas foram processadas em moinho de facas para obtenção do pó. Usando-se as concentrações de 100 ml de água destilada foram adicionados 1; 5; 10; 15 e 20 gramas do pó da casca de *Stryphnodendron adstringens*. A mistura obtida foi acondicionada em frascos de vidro, protegidas da luz e mantida em repouso por um período de 24 horas. Logo após, a mistura foi submetida à filtração usando filtro Millipore® 0,22 µm, em câmara de fluxo laminar para eliminar agentes contaminantes (adaptado de GONÇALVES e BLEICHER, 2006; COSTA et al., 2016).

#### 4.6 Preparo da suspensão fúngica e montagem do experimento

Para a manutenção da *Candida sp.*, desde o seu fornecimento até a data de realização do experimento, mantém-se o fungo em meio enriquecido, o meio enriquecido utilizado foi rugai com lisina.

É necessário semear a *Candida sp.* que está mantida no meio enriquecido de rugai com lisina para o meio de cultura Ágar Mueller-Hinton com antecedência de 24Hrs antes da montagem do experimento. O rugai é um meio líquido e o fungo está em forma de cepa, e para o experimento é necessário obter colônias da *Candida sp.*

Após as 24 horas, no ato da execução do experimento foi diluída a *Candida sp.* no soro fisiológico com 40 minutos antes de fazer o preparo da suspensão fúngica. Após os 40 minutos, com o auxílio de swabs de inoculação estéreis, foi semeada a *Candida sp.* em placas de Agar Muller-hinton, e também em placas de Petri, sendo esta última somente será semeado o fungo. Após semear o fungo nas placas Ágar Muller-hinton, colocará em contato com esse meio de cultura os discos de papel filtro (6mm de diâmetro), esterilizado e embebidos com o extrato aquoso de *S. adstringens* 10µL das concentrações: 1; 5; 10; 15 e 20 g.100 ml, com a utilização de micropipeta.

Para cada concentração foram feitas 3 repetições, ou seja, foram colocados 1 disco de cada concentração em três placas de forma individual, cada placa continha seu disco embebido. E para cada concentração foi feita também uma testemunhas, com a utilização das placas de Petri, nessas foram somente semeada a *Candida sp.*, sem a presença dos discos embebidos. Após esse processo a placas foram lacradas com papel filme e encubadas em estufa à 37°C, foram feitas as leituras das placas em períodos de 24 e 48 horas (PINHO et al., 2011; GLEHN e RODRIGUES, 2012).



Fonte: Fancyele Nogueira

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a metodologia utilizada para a realização do experimento, não houve formação de halos de inibição ao redor dos discos embebidos com o extrato aquoso de *Stryphnodendron adstringens*, contidos nas placas, em nenhuma das concentrações avaliadas nas análises de 24 e 48 horas frente à *Candida sp.* conforme pode ser visto nas imagens a seguir.



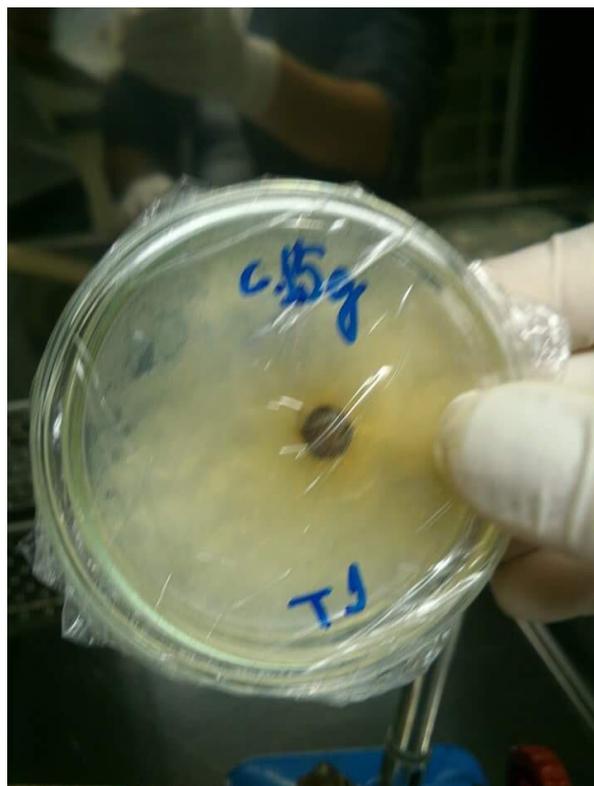
Fonte: Francyele Nogueira



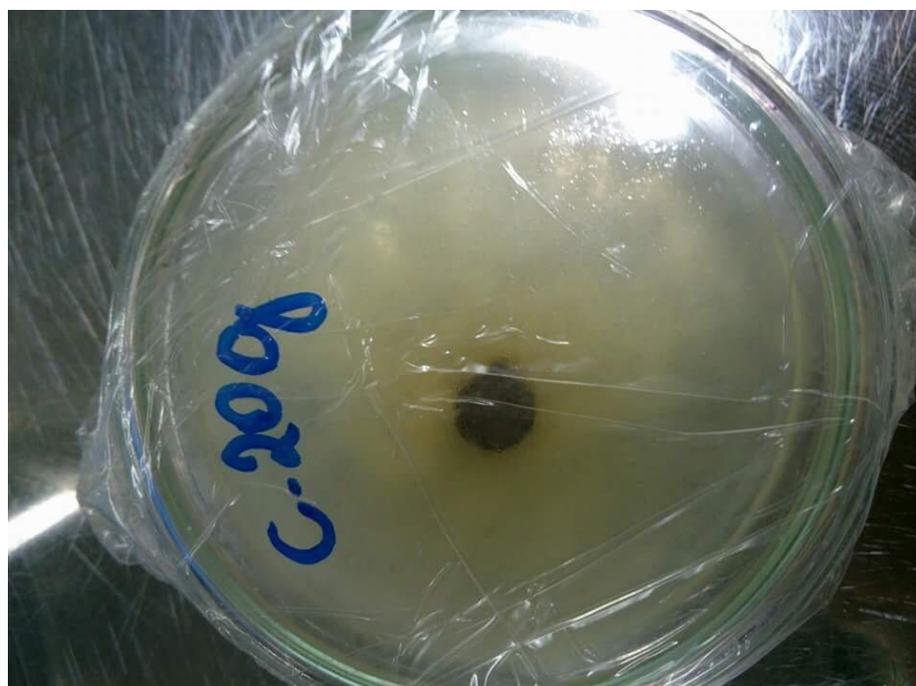
Fonte: Francyele Nogueira



Fonte: Francyele Nogueira



Fonte: Francyele Nogueira



Fonte: Francyele Nogueira

Já o extrato hidroglicólico de *Stryphnodendron adstringens* na montagem de um antifungiograma contendo o fungo da *Candida sp*, não houve a obtenção de formação satisfatória de halos de inibição se comparada com a planta da espécie

*Tabebuia avellanedae* (Ypé roxo) encontrada em todo território brasileiro inclusive no bioma cerrado, e, esta mesma planta apresentou formação de halos de inibição contra a *Candida sp.*, estas planta foram coletadas no Herbário da Associação Beneficente Amigo Germano na cidade de São Paulo (GLEHN E RODRIGUES, 2012).

Segundo ISHIDA et al. (2006) que realizou em seu trabalho a avaliação antifúngica da planta *Stryphnodendron adstringens* frente à *Candida albicans* usando as cascas secas da mesma que foram coletadas em novembro de 2004 na cidade de São Jerônimo da Serra no Paraná, Brasil. Em seu trabalho foi feito o extrato bruto da planta obtido por turbo-extração de 100g da casca com 70% de acetona, o solvente orgânico foi eliminado e restando somente o extrato bruto. E este extrato bruto foi fracionado e subfracionado. A subfração que demonstrou efeito antifúngico foi a subfração F2.4 que foi obtida pela suspensão de 36g do extrato bruto em 360 ml de água. Esta subfração demonstrou resultados a partir da concentração de 7,80mg/L, e este resultado é semelhante ao da nistatina, antifúngico usado no controle da candidíase.

O resultado negativo obtido do trabalho que foi a não formação de halos de inibição é condicionada por alguns fatores que podem ter interferido no resultado final do trabalho em relação à concentração de taninos na planta como o tipo de solo onde a planta encontra-se, localização geográfica, o tipo de clima e a época de coleta.

De acordo com a época em que foi feita a coleta do material botânico, pode haver interferências na produção de substâncias provenientes do metabolismo secundário das plantas, no caso o tanino. Tais interferências podem ser explicadas através das variações climáticas, como, se a estação é seca e fria ou úmida e quente.

Em relação à localização geográfica da planta, em que diferentes localidades do cerrado, haverá variação do tipo de solo. O solo do cerrado tem grande nível de acidez causando também mais uma forma de interferência na quantidade de taninos produzidos pela planta.

Analisando os fatores que podem interferir na produção de taninos da planta *Stryphnodendron adstringens*, deve-se também levar em consideração que os fungos do gênero *Candida* apresentam certa dificuldade de serem controlados, mesmo com os antifúngicos convencionais para realização do tratamento.

Apesar das concentrações utilizadas nos tratamentos deste experimento, não é interessante aumentar tais concentrações, já que as mesmas concentrações

utilizadas já foram altas e a planta pode apresentar níveis de toxicidade. A toxicidade da planta *Stryphnodendron adstringens* se encontra nas suas folhas e frutos, a casca é o material botânico que não apresenta níveis consideráveis de toxicidade, e, para se aumentar a concentração é importante avaliar o nível de toxicidade da casca da planta.

Então se faz necessário a realização de novos estudos para avaliar melhor as propriedades químicas da planta *Stryphnodendron adstringens*, a sua melhor época de coleta da casca, qual é o tipo de solo mais propício para o cultivo da planta, para que futuramente possam-se obter resultados precisos em relação a sua ação fungistática. Tais estudos são importantes, pois a sua utilização pela população por conhecimento empírico é alta.

## 6 CONCLUSÃO

Diante das condições experimentais utilizadas para o desenvolvimento deste trabalho, este não conseguiu tornar possível a formação de halos de inibição nas placas, que continham as concentrações utilizadas frente ao fungo - *Candida sp.* -, com o intuito de eliminá-lo. Portanto, o microorganismo foi resistente diante aos tratamentos, cabendo-se assim novos estudos, com novas análises das propriedades da planta – *Stryphnodendron adstringens* -, identificando-se então qual seria a melhor cultura da planta para se trabalhar com melhores resultados dos princípios ativos da planta.

## 7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARES, C.A; Svidzinski, T. I. E; Consolaro, M. E. L. Candidíase vulvovaginal: fatores predisponentes do hospedeiro e virulência das leveduras. **Revista Scielo**,v.43, n.5, p.319-327, 2007.

BARBEDO, L.S.; SGARBI, D.B.G. Candidiase. **DST-J bras Doenças Sex Transm**, p. 22-38, 2010.

CARVALHO, R.J.V. et al. IgA, IgE and IgG subclasses to *Candida albicans* in serum and vaginal fluid from patients with vulvovaginal candidiasis. **Revista Associação Médica Brasileira**, v.49, n.4, p.434-8, 2003.

CASTRO, A.H.F. et al. Calogênese e teores de fenóis e taninos totais em barbatimão *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. **Revista Ciências Agrotécnicas**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 385-390, 2009.

COLOMBO, A.L.; GUIMARÃES, T. Candidúria: uma abordagem clinica e terapêutica. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, São Paulo, p. 332-337, 2007.

COSTA, E.M. et al. Extrato aquoso de sementes de nim no controle de *Liriomyzasativae* (Diptera: Agromyzidae) em meloeiro. **Revista Ciências Agrônômica**, Ceará, v. 47, n. 2, p. 401-406, 2016.

FIGUEIREDO, J.A et. al. Urologia Fundamental. **Infecção urinária**. São Paulo, São Paulo, ed. Planmark, 2010. Disponível em: <<http://www.sbu-sp.org.br/arquivos/publicacoes/OS1688-Completo-UrologiaFundamental-09-0910.pdf>>. Acesso em: 15 nov. 2015.

GLASENAPP, J.S. et al. Descrição da diversidade genética de populações naturais de barbatimão *Stryphnodendron adstringens*(Mart.) Coville em unidades de conservação de Minas Gerais. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 38, n. 1, p. 103-112, 2014.

GLEHN, E.A.V.; ROFRIGUES, G.P.S. Antifungigrama para comprovar o potencial de ação dos extratos vegetais hidroglicólicos sobre *Candida sp.*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, São Paulo, v.14, n.3, p.435-438, 2012.

GONÇALVES, M.E.C.; BLEICHER, E. Uso de extratos aquosos de nim e azadiractina via Sistema radicular para o controle de mosca-branca em meloeiro. **Revista Ciência Agrônômica**, v.37, n. 2, p. 182-187, 2006.

HOLANDA, A.A.R. et al. Candidíase vulvovaginal: sintomatologia, fatores de risco e colonização anal concomitante. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Natal, v.29, n.1, p.3-9, 2007.

ISHIDA, K. et al. Influência de taninos de *Stryphnodendron adstringens* nos fatores de crescimento e virulência de *Candida albicans*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, p. 8, 2006.

MADIGAN, M.T; MARTINKO, J. M. **Microbiologia de brock**. Tradução de Cynthia Maria Kyaw. 10.ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004. Título original: Brock biology of microorganisms. p.546.

MARTINS, E.R. et al. Teor de taninos e flavonóides em cascas e folhas de barbatimão *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. **Revista MG.Biota**, Belo Horizonte, v.2, n.4, p. 30-35, 2009.

MATOS, F.J.A. **Plantas Tóxicas: Estudo de Fitotoxicologia de Plantas Brasileiras**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2011. p.112-114.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasil. Bot.**, V.26, n.2, p.231-238, jun. 2003

MOLINARO, Etelcia et al (Org.). **Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde: Micologia**. Rio de Janeiro: IOC, 2009. 290 p.

MURRAY, P.R. **Microbiologia Médica**. Tradução de Carlos Pelleschi Taborda. 6ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. Cap. 74, p. 728-731.

MURRAY, P.R. **Microbiologia Médica**. Tradução de Andreza Martins. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. Cap. 65, p. 605-607.

OLIVEIRA, A.L.S.; FIGUEIREDO, A.D.L. Prospecção Fitoquímica das Folhas de *Stryphnodendron adstringens*. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 384-386, 2007.

RIBEIRO, L.O. et al. Fitotoxicidade de extratos foliares de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] em bioensaio com alface. **Revista Brasileira de Biociências**, Monte Alegre, v. 10, n. 2, p. 220-225, 2012.

RODRIGUES, D.F. et al. O extrato da casca de barbatimão, *Stryphnodendron adstringens*(Martius) Coville, na cicatrização de feridas em animais. **Enciclopédia Biosfera**. Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 9, n. 16, p. 1583-1601, 2013.

SILVA, A.K.F. et al. Infecções urinárias nosocomiais causada por fungo do Gênero *Candida*: uma revisão. **Ciências Biológicas e da Saúde**, Maceió, v. 2, n. 1, p. 45-57, 2014.

ZARPELON, F.I. et al. Análise crítica comparativa entre as bulas dos medicamentos antimicóticos Nizoral® creme X Cetoconazol creme X Cetonax® creme. **II Congresso de Pesquisa e Extensão da FSG**, Caxias do Sul, p. 405-412, 2014.