

CAPÍTULO

PRODUÇÃO DE TERPENOIDES COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA FRENTE À *CANDIDA SP*

Carlos Alberto Mendes da Silva FILHO ¹
Anna Carolyna Ferraz Menezes CAVALCANTI ¹
Clécia Machado AMORIM ¹
Rejane Pereira NEVES ²
Henrique John Pereira NEVES³

¹ Graduandos do curso de Biomedicina, Centro Universitário Tabosa de Almeida – ASCESJUNITA; ² Doutora, professora Titular do Departamento de Micologia Médica da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, ³ Orientador, Doutor, Departamento de Micologia Médica da Universidade Federal de Pernambuco, (henriquejohn@yahoo.com.br).

RESUMO: Este artigo, pesquisa a sensibilidade da planta *Bidens pilosa* em relação à atividade antimicrobiana, visando encontrar uma forma alternativa de combater infecções causadas por leveduras do gênero *Candida* sp. Já que a resistência aos antifúngicos, tem representado um grande desafio para a clínica e que acometem tantas pessoas e que muitas vezes são utilizados medicamentos alopáticos, não tão saudáveis ao homem. Apesar da cândida fazer parte da microbiota normal do homem, há infecções que acometem principalmente pessoas com imunossupressão, imunodeficiência, uso inadequado de corticoides, e ambientes como UTI hospitalar. Em trabalho prático que visa extrair terpenoide a partir das folhas e flores da nominada planta, para atuar como substância antifúngica frente à *Candida* sp. Utilizando como substancia ativa os terpenoides presentes na planta, atuando em antibiograma com cepas de *Candida* isoladas. Cepas isoladas de microbiota normal e ambiente hospitalar. Os resultados reafirmam a possibilidade de utilização dessa substância presente na planta como tratamento e controle frente a *Candida* sp. Contudo, a

concentração mínima inibitória, relevante para estudo de toxicidade, foi praticamente semelhante ao da massa de 100g. Seria mais interessante utilizar a massa de 100g, pois com pouca quantidade da planta pode-se ter um resultado satisfatório, o que significa uma economia de matéria prima se for produzir o extrato em escala industrial.

Palavras-chave: *Bidens pilosa*; *Candida sp*; Terpenoide.

1 INTRODUÇÃO

O tratamento de infecções fúngicas invasivas é um desafio que acomete em ambientes ambulatoriais, hospitalares e em unidades de terapia intensiva. Os fungos têm a característica de serem oportunistas, infectando principalmente pacientes imunossuprimidos e que utilizam várias outras medicações, o que torna importante à busca por fármacos com a maior eficácia e o menor número possível de efeitos colaterais (NETO, 2009).

Apesar do aumento no número de antifúngicos comercialmente disponíveis nos últimos anos, estes ainda encontram-se em desvantagem, quando comparados às drogas antibacterianas. Além disso, a resistência aos antifúngicos, tem representado um grande desafio para a clínica (COLOMBO; GUIMARAES, 2003).

Os fungos são organismos que convivem conosco todos os dias. Estes microrganismos são encontrados em qualquer tipo de ambiente que nos cerca. Os fungos são importantes tanto do ponto de vista ecológico quanto económico (MORAES, 2009).

Ecologicamente, são considerados os “lixeiros do mundo”, pois degradam todo tipo de restos orgânicos,

independente da origem, transformando-os em elementos aproveitáveis pelas plantas e pelo solo. E economicamente, porque são fáceis de obtenção e isolamento, não tem custos, rápido crescimento. E são implantados nas áreas de medicina, biotecnologia, agricultura, fitoterapia, entre outras (MORAES, 2009).

As micoses são infecções causadas por fungos, que infectam o ser humano ou animais. Podem causar alergias respiratórias, cutâneas leves ou intensas, dependendo da suscetibilidade e pré-disposição do indivíduo (MORAES, 2009).

As micoses superficiais da pele, também chamadas de “tineas” são infecções causadas por fungos que atingem a pele e seus anexos, e podem ser encontrados no solo e em animais. Até na própria pele existem fungos colonizando o indivíduo sem causar doença, como microbiota residente. Quando estes os fungos encontram condições favoráveis ao seu crescimento, como calor, umidade, baixa de imunidade ou uso de antibióticos sistêmicos por longo prazo, estes fungos se reproduzem e passam então a causar a doença (SOMENZI, 2006).

Micoses cutâneas são fungos queratinofílicos e queratinolíticos, que são capazes de destruir as superfícies queratinosas de pele, pêlo e unhas. Nas biópsias cutâneas ou raspadas, todos os dermatófitos são morfológicamente similares e aparecem com hifas septadas hialinas, cadeias de arthroconídios ou cadeias dissociadas de arthroconídios. Os dermatófitos podem ser geofílicos (vivem no solo, patógenos ocasionais), zoofílicos (parasitam o pêlo e a pele de animais, infectam, humanos) ou antropofílicos (infectam humanos e são

transmitidos direta ou indiretamente de pessoa a pessoa). (MURRAY, 2006).

Micoses subcutâneas se caracterizam por resultar da inoculação de um fungo patogênico por ocasião de um traumatismo, manifestando-se como tumefação ou lesão supurada da pele ou do tecido subcutâneo. Que é o resultado da disseminação do fungo por contato ou por via linfática, porém é limitada ao local do linfonodo regional (ALMEIDA et al., 2007).

Micoses sistêmicas são caracterizadas por serem adquiridas por inalação de esporos fúngicos, sendo, conseqüentemente a lesão primária pulmonar, com tendência à regressão da infecção. O fungo pode se disseminar pelo corpo através do sangue, originando lesões extrapulmonares nos indivíduos. Os agentes de micoses sistêmicas raramente são implantados traumáticamente; quando isso ocorre, determinam uma lesão granulomatosa circunscrita, com ou sem linfangite regional, que regride espontaneamente (OLIVEIRA, 2005).

Existem também as micoses oportunistas, que são causadas por fungos termotolerantes (que crescem a uma temperatura de 37°C), de baixa virulência e que determinam doenças em hospedeiros imunocomprometidos ou imunodeficientes. Esses fungos têm porta de entrada variável. Geralmente provocam reação supurativa necrótica. Podem acometer os mais variados órgãos, produzindo quadros polimórficos que se apresentam como manifestação cutânea, subcutânea ou sistêmica (HIBBET et al., 2007).

Uma dessas infecções fúngicas conhecida é a Candidíase. Esta é considerada uma infecção sexualmente transmissível (IST), é uma micose oportunista causada pela

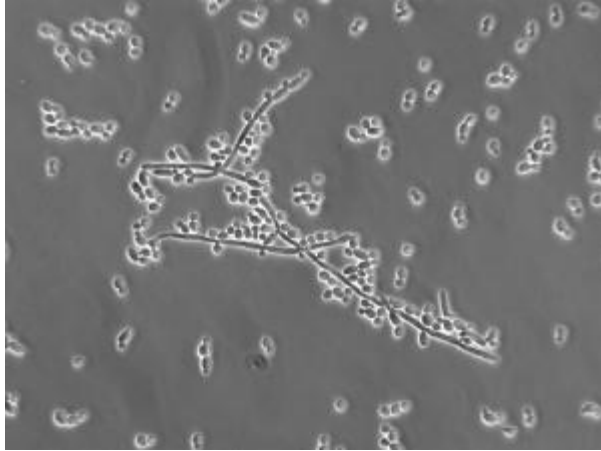
levedura *Candida sp.* O diagnóstico laboratorial da candidíase baseia-se no exame direto e observação da cultura leveduriforme em Ágar Sabouraud (BARBEDO; SGARBI, 2010).

Candidíase é uma doença fungica e pode ser causada por mais de vinte tipos de fungos do género *Candida*, um tipo de levedura, dos quais a *Candida albicans* é um dos mais comuns. As infeções da boca são mais comuns entre crianças com menos de um mês de idade, idosos e pessoas com imunodeficiência ou imunocomprometimento (NCEZID; DFWED, 2014).

A candidíase apresenta em uma extensa variedade de síndromes clínicas causadas por um fungo do género *Candida*, constituído de aproximadamente 200 espécies diferentes de leveduras, que vivem normalmente nos mais diversos nichos corporais. O género *Candida* compreende espécies que medem aproximadamente de 2 a 6µm e se reproduzem por brotamento; a maior parte das espécies forma pseudo-hifas e hifas nos tecidos. As colónias têm coloração branca a creme e possuem superfície lisa ou rugosa (ALVAREZ, 2010).

Figura 1. *Candida sp.*

PRODUÇÃO DE TERPENÓIDES COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA FRENTE À
CANDIDA SP



Fonte: <http://healthlob.com/2011/06/candidiasis-causes/>

Segundo o estudo de Barbedo (2010), a *Candida albicans* é a espécie mais comum causadora de infecção no ser humano. A maioria dos estudos mostra que esta espécie constitui 60% dos isolados de amostras clínicas, uma vez que esta levedura faz parte da microbiota humana.

Outras espécies também podem ser infecciosas, porém apresentam menor frequência. Estão entre elas a *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida lusitanae* e *Candida guilliermondii*. As espécies *C. glabrata* e a *C. krusei* apresentam resistência ao antifúngico Fluconazol, por isso sua ocorrência em hospitais está associada ao maior uso desse fármaco (KAUFFMAN, 2005).

Em pacientes internados na UTI (unidade de terapia intensiva) o uso de antimicrobianos de amplo espectro, cateteres intravenosos e ureterais, procedimentos cirúrgicos prévios, insuficiência renal e nutrição parenteral são as principais vias de risco para infecções graves por *Candida*. A

epidemia da síndrome da imunodeficiência adquirida humana (AIDS) levou a um aumento significativo das infecções por *Candida*, sendo que a manifestação primária da infecção nesses pacientes é a mucocutânea, principalmente a candidíase orofaríngea (KAUFFMAN, 2005).

Entre as condições que causam esta debilidade estão a AIDS, os medicamentos usados em transplante de órgãos, diabetes e o uso de corticosteroides. Entre outros fatores de risco estão o uso de próteses dentárias e o uso de antibióticos (NCEZID; DFWED, 2014).

A imunossupressão, causada por doença sistêmica, ou induzida por terapia imunossupressiva, é outro fator associado à infecção sistêmica por *Candida*. Na maioria dos casos, estes pacientes imunossuprimidos receberam antibióticos de largo espectro e tiveram cateteres intravenosos, aumentando, assim, o risco de infecção (SERRACARBASSA; DOTTO, 2003).

A Aids é fator de risco para o desenvolvimento de candidíases. Apesar da candidíase mucocutânea ser muito comum nos pacientes portadores de Aids, a disseminada não é comum. Este fato pode ser explicado por ser a infecção sistêmica por *Candida* comum em indivíduos com neutropenia, enquanto a candidíase mucocutânea ocorre nas alterações da imunidade mediada por células (SERRACARBASSA; DOTTO, 2003).

Os sintomas mais frequentes da candidíase oral são a dor e vermelhidão da boca e mucosa, podendo também haver manchas brancas ou placas na mucosa da língua e bochecha. Já a candidíase nos órgãos genitais são frequentes. O prurido (coceiras), vermelhidão e irritação da região exterior da vagina, bem como uma secreção branca e espessa no caso

das mulheres, e nos homens, vermelhidão do pênis e prepúcio (NCEZID; DFWED, 2014).

Em 2014, a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou em seu primeiro relatório global sobre a vigilância da resistência antimicrobiana, com dados fornecidos por 114 países. O relatório revela que a resistência aos antibióticos já não é problema do futuro, mas está colocando em risco a capacidade de tratar infecções comuns entre a população. O uso abusivo de drogas antimicrobianas acelera o aparecimento de estirpes resistentes aos medicamentos. Nesse sentido, práticas de controle de infecção ineficazes, condições sanitárias inadequadas e manipulação imprópria de alimentos estimulam a propagação da resistência microbiana. Se sabe já que devem ser tomadas medidas para reduzir esse problema, buscando não só controlar o uso indiscriminado de antibióticos, como também desenvolver novas pesquisas para compreender melhor os mecanismos genéticos de resistência e investir em estudos para desenvolver novos medicamentos, sintéticos e naturais (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

Desde 2007, o Ministério da Saúde (MS) brasileiro oferece fitoterápicos derivados de plantas. Atualmente, disponibiliza a utilização de 12 medicamentos fitoterápicos na rede pública de saúde (BRASIL, 2013).

Segundo Brasil (2009), o MS divulgou a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS). Nessa lista constam as plantas medicinais que apresentam potencial para gerar produtos de interesse ao SUS. Dentre as espécies listadas, constam plantas usadas pela sabedoria popular e confirmadas cientificamente. A

criação dessa lista é uma iniciativa importante, pois direciona a pesquisa clínica e o ensino para este conjunto de plantas.

Hoje, existem diversas pesquisas que buscam novos agentes antimicrobianos a partir das plantas, devido ao surgimento de microrganismos resistentes. E esse tipo de pesquisa é de extrema importância, por apresentar novas atividades farmacológicas e também, pelo Brasil possuir uma imensa biodiversidade (PENNA et al., 2001).

Outras pesquisas recentes têm mostrado a utilização de substâncias extraídas das plantas. Tais substâncias são conhecidas como *terpenóides* ou *terpenos*. Geralmente são utilizadas como opção em aplicações agressivas à natureza. Essas substâncias vêm sendo utilizadas na Indústria Química como solução amigável ao meio ambiente em repelentes de insetos, inseticidas, desinfetantes, fungicidas e bactericidas (BERGAMASCHI, 2013).

Desde a antiguidade que os constituintes odoríferos de uma planta podem estar concentrados na forma de um tipo “óleo essencial” pelo aquecimento da matéria prima. A investigação da composição química destes óleos levou a descoberta de alguns hidrocarbonetos isoméricos de fórmula $C_{10}H_{16}$ a que se definiram terpenos (ALLINGER et al., 2011).

Os terpenos são hidrocarbonetos formalmente divididos em unidades isoprênicas. É um dos maiores grupos de produtos naturais e compreende numerosas substâncias com papéis importantes em processos fisiológicos e patológicos. Para a formação das unidades isoprênicas, inicialmente três moléculas de acetil-coenzima A são usadas para na formação do ácido mevalônico, duas se combinam através de condensação de Claisen para formar a acetoacetil-coenzima A e a terceira molécula é incorporada via adição aldólica

estereoespecífica para gerar o éster β -hidroxi- β - metilglutaril-CoA (do inglês, HMG-CoA) (ADAM et al., 2002).

A planta *Bidens pilosa* apresenta alguns terpenóides descritos pelas literaturas. Como os Lineares: composto por fitol, esqualeno e β -caroteno. Sesquiterpenóides: composto por biciclogermacreno, E-cariofileno, germacreno D, Z- γ -bisaboleno, β -gurjunene, α -humuleno, δ -muuroleno, selina-3,7(11) -dieno (BARTOLOME et al, 2011).

Triterpenóides: composto por lupeol, lupeol acetato, β -amirina, friedelina. Esteróis: composto por campesterol, fitosterina-B, β -sitosterol, β - sitosterol glucosídeo, estigmasterol, Fenilpropanóides: ácido p-cumárico, eugenol, ácido ferúlico, ácido caféico, ácido. clorogênico, esculetina (BARTOLOME et al, 2011).

Desde a antiguidade que os constituintes odoríferos de uma planta podem estar concentrados na forma de um tipo “óleo essencial” pelo aquecimento da matéria prima. A investigação da composição química destes óleos levou a descoberta de alguns hidrocarbonetos isoméricos de fórmula $C_{10}H_{16}$ a que se definiram terpenos (ALLINGER et al., 2011).

Os terpenos são hidrocarbonetos formalmente divididos em unidades isoprênicas. É um dos maiores grupos de produtos naturais e compreende numerosas substâncias com papéis importantes em processos fisiológicos e patológicos. Para a formação das unidades isoprênicas, inicialmente três moléculas de acetil-coenzima A são usados para na formação do ácido mevalônico, duas se combinam através de condensação de Claisen para formar a acetoacetil-coenzima A e a terceira molécula é incorporada via adição aldólica estereoespecífica para gerar o éster β -hidroxi- β - metilglutaril-CoA (do inglês, HMG-CoA) (ADAM et al., 2002).

Bidens pilosa, vulgarmente chamado de “picão”, ocorre em toda a faixa tropical e subtropical do mundo. No Brasil, é usado popularmente no tratamento de icterícia e malária. É usado também em outras doenças e condições em que acha emprego popular incluem reumatismo, asma e conjuntivite, hipertensão, febre, infecções bacterianas e por fungos, contra úlceras, alergia e como cicatrizante (GILBERT, 2013).

Demonstrar-se-á, segundo Deba et al. (2008), que os óleos essenciais de folhas e flores de *B. pilosa* apresentava uma significativa atividade medida por halos de inibição em placa de ágar contra seis espécies de bactérias (*Micrococcus flavus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas ovalis*) e três de fungos (*Corticium rolfsii*, *Fusarium solani* e *F. oxysporum*). Os halos de inibição com 00µg/disco de 6mm, de 10 a 20 mm comparam com os de 15 a 44 mm do controle, ampicilina, a 30µg/disco. Essas atividades foram atribuídas principalmente ao β -*cariofileno* e α -*pineno*, componentes mais abundantes do óleo essencial.

Em virtude de a planta *B. pilosa* possuir atividade antimicrobiana como visto acima, visando encontrar uma forma alternativa de combater infecções causadas por leveduras do gênero *Candida sp.*, que acometem tantas pessoas e que muitas vezes são utilizados medicamentos alopáticos, não tão saudáveis ao homem, esse trabalho teve o objetivo principal extrair terpenoide a partir das folhas e flores da planta *Bidens pilosa*, para atuar como substância antifúngica frente à *Candidas sp.*

2 MATERIAIS E MÉTODO

PRODUÇÃO DE TERPENÓIDES COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA FRENTE À
CANDIDA SP

A pesquisa foi de caráter experimental, realizada em laboratório, com dados qualitativos. Foi desenvolvida no Laboratório Interdisciplinar Microbiologia, Campus II, Centro Universitário Tabosa de Almeida, ASCES - UNITA.

Iniciou-se com a obtenção do extrato bruto da planta, o óleo essencial contendo o terpenoide foi obtido através da hidrodestilação em aparelho graduado Clevenger, usando-se 100 g das folhas e flores, em 1000 mL de água destilada, em temperatura máxima de 100 °C até atingir a fervura, reduzindo-se posteriormente para 75 °C, aquecendo-se o sistema com uma manta de aquecimento, por um período de aproximadamente 2 h. Ao final, o terpenoide foi coletado com uma pipeta e armazenado em eppendorf protegidos da luz com papel alumínio.

Foram incluídos na pesquisa para a extração do terpenoide da planta *B. pilosa* suas folhas e flores. A avaliação do Processo de Extração de Terpeno foi tomado por base os 100 g da planta, folhas e flores em 1000 mL de água destilada, foi medido o volume deste extrato produzido e posteriormente repetindo-se o procedimento para as massas de 200 g e 300 g da planta, verificando-se em qual dos métodos haverá maior produção do terpeno.

As cepas utilizadas foram cinco espécies de fungo leveduriforme *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida Krusei* e *Candida parapsilosis*, disponibilizadas em meio ágar Sabouraud pelo Micoteca do Departamento de Micologia Médica da Universidade Federal de Pernambuco, tendo sido inicialmente testado o terpeno no Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces|Unita) e posteriormente na Micologia

PRODUÇÃO DE TERPENÓIDES COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA FRENTE À
CANDIDA SP

Médica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Cepas isoladas de pacientes atendidos na próprio Laboratório Escola da Asces|Unita e cepas isoladas de pacientes de hospitais na Micoteca da UFPE.

Conforme Ribeiro (2011), utilizou-se placas de petri com meio ágar Sabouraud, assim como discos de 6 mm de diâmetro esterilizados previamente. Realizamos repiques de *Candida sp* em ágar Sabouraud-dextrose ou ágar batata-dextrose para obter culturas de 24h e garantir a pureza e a viabilidade das cepas. A temperatura de incubação foi de 35°C.

Preparou-se o inóculo escolhendo-se 05 colônias com cerca de 01mm de diâmetro e suspenso em 05 mL de solução fisiológica estéril 0,85%. Agitando a suspensão padrão resultante em vortex durante 15 segundos e ajustando a densidade celular em espectrofotômetro, acrescentando-se solução salina suficiente para obter a transmitância equivalente a uma solução padrão da escala de McFarland 0,5 de comprimento de onda de 530nm, obtendo-se suspensão-padrão de levedura $1 \text{ a } 5 \times 10^6$ células/mL.

Após o crescimento dos inóculos, a suspensão foi semeada com swab de algodão sobre as placas de Petri que irão conter 15ml de meio sólido ágar Sabouraud, com uma espessura de aproximadamente 4 mm, em seguida os discos utilizados para antibiograma, de 6mm de diâmetro, de papel, que foram embebidos com o extrato, terpeno, da planta e impregnados em uma placa Petri.

Este procedimento foi realizado inicialmente para a massa de 100 g da planta e repetido para as outras duas massas de planta utilizadas, 200 g e 300 g, massas estabelecidas conforme Koch (2014), bem como para cada

espécie de fungo estudada. As placas foram incubadas à 35°C, sendo realizadas leituras visuais após 24h e 48h, em seguida, fazendo-se a observação visual e medição do diâmetro dos halos produzidos para cada espécie de fungo.

Na leitura dos resultados, foi observado se houve inibição do crescimento do microrganismo causada pelo terpeno e foram medidos os halos surgidos na técnica de antibiograma, para cada espécie do fungo, em seguida foi verificado qual o maior halo foi apresentado e para que espécie do fungo, para verificar o quanto inibiu esse crescimento conforme o tamanho do halo. Tendo como base para controle do antibiograma, placas semeadas sem o extrato, apenas com a levedura de cada espécie testada.

Por último, foram observados os volumes de extratos produzidos pelo método convencional, para os extratos obtidos para cada condição do processo produtivo, visando verificar qual processo produtivo é mais eficiente em termos de volume e massa de terpeno.

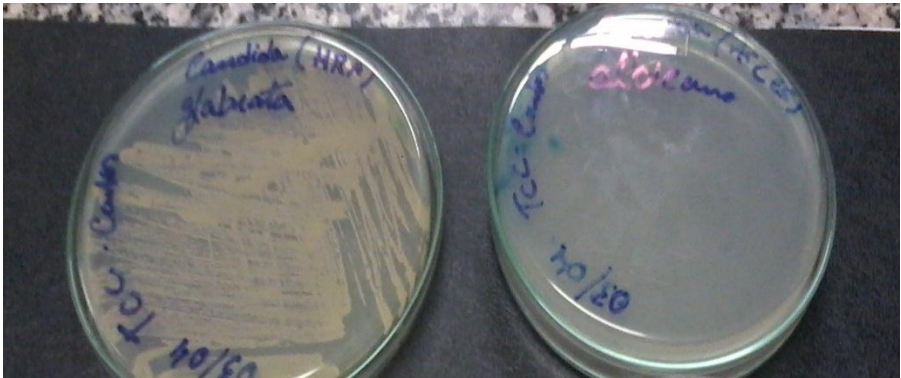
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na utilização de 100 g da planta em 1000 mL, com uma concentração de terpeno de 100 g/L, com um volume de 1 L da solução ao testa-la para as espécies de levedura indicadas, houve inibição do crescimentos em todas as placas contendo as leveduras, só não houve inibição para o crescimento da espécie *Candida glabrata*, tanto para a concentração de 100% da solução quanto para a concentração de 50%, ou seja, tendo-se o valor de Concentração Mínima Inibitória – CMI para 50 g/L, como pode-se observar na figura 2 abaixo, em que se

PRODUÇÃO DE TERPENÓIDES COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA FRENTE À
CANDIDA SP

observa a inoculação sem disco em que o terpeno foi espalhado no meio com alça de Drigalsk antes da inoculação.

Figura 2. Cepas de *Candida glabrata* e *Candida albicans* semeadas em meio Chromogar

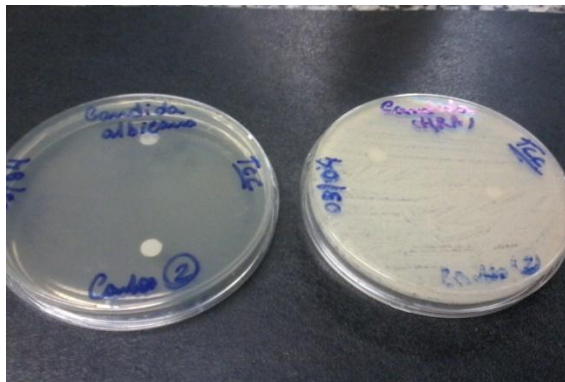


Fonte: Propriedade do autor

Com a obtenção do terpeno de 100g do extrato da planta, colocamos os discos de 6mm embebidos do mesmo e inoculamos no meio ágar Sabouraud já semeado com a cepa de *Candida*. Os testes foram posteriormente feitos com os disco de 6 mm, embebidos com o terpeno, onde se observa os resultados na figura 3 abaixo.

Figura 3. Antibiograma *Candida albicans* e *Candida glabrata*

PRODUÇÃO DE TERPENÓIDES COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA FRENTE À
CANDIDA SP



Fonte: Própria autoria

Na primeira placa (Fig. 3), houve inibição total da *Candida albicans*, observa-se que o halo formado tomou conta de toda placa. E ainda na fig. 3, a segunda placa, semeada com *Candida glabrata*, não houve nenhuma inibição, nenhum halo formado.

A *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida Krusei* e *Candida parapsilosis*, isoladas durante coleta micológica da pele de pacientes, cepa natural, já que faz parte da microbiota normal do homem (AVRELLA & GOULART, 2008).

Na segunda placa, foi semeada *Candida glabrata*, isolada de UTI de hospital, deduzimos que seja uma cepa de resistência.

A *Candida glabrata* surge como um importante patógeno hospitalar, constituindo-se na segunda ou terceira espécie mais comum na maioria das séries de candidemia relatada nos EUA e Europa (SILVA, 2002).

De acordo com Nussi & Colombo (2002), a *Candida glabrata* isolada de pacientes hospitalares, mesmo não sendo comum quando comparada com outras espécies, apresenta resistência a diversos antifúngicos.

PRODUÇÃO DE TERPENÓIDES COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA FRENTE À *CANDIDA SP*

Para as massas de 200 e 300 gramas da planta apresentaram eficiência dos respectivos extratos no processo inibitório, com concentrações das soluções de 200g/L e 300 g/L, respectivamente, tendo-se o aumento das concentrações dos extratos, contudo os resultados não foram levados em consideração, tendo em vista que a Concentração Mínima Inibitória (CMI) foi obtida para uma massa de 100g da planta, para 50% desta concentração, ou seja, 50 g/L, e que as outras concentrações podem apresentar uma toxicidade mais elevada, o que se torna menos interessante para utilização da substância pelo ser humano, tendo em vista que quanto menor a concentração mínima inibitória, melhor é para o ser humano, por se ter uma toxicidade menor.

4 CONCLUSÕES

A *B. pilosa* apresentou uma boa atividade antifúngica frente a *C. albicans*, *C. tropicalis* com as massas de 100g, 200g e 300g, formando um halo praticamente do tamanho da placa petri, como mostra na fig.3, primeira placa petri. Só não apresentou eficiência de inibição para a *Candida glabrata*, não houve inibição provavelmente devido a cepa ser de origem hospitalar e por conseguinte uma cepa de resistência microbiana, como mostra na fig 3, segunda placa petri.

O aumento das massas da planta aumentaram as concentrações dos extratos, tanto para a massa de 200g quanto para a massa de 300g, contudo a concentração mínima inibitória, relevante para estudo de toxicidade, foi praticamente semelhante ao da massa de 100g, o que mostra que a massa não influi consideravelmente para a produção do extrato, desta feita, para se ter a mesma concentração mínima

inibitória, ser mais interessante utilizar a massa de 100g, pois com pouca quantidade da planta pode-se ter um resultado satisfatório, o que significa uma economia de matéria prima se for produzir o extrato em escala industrial.

Verificou-se também que para se ter uma melhor concentração de extrato, o processo de decocção ser mais aplicável do que o processo de extração por vapor de arraste, no caso específico para esta planta em estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAM, P.; HECHT, S.; EISENREICH, W.; KAISER, J.; GRAWERT, T.; ARIGONI, D.; BACHER, A. ROHDICH, F. **Biosynthesis of terpenes: studies on 1-hydroxi-2-methyl-2-(e)- butenyl-4-disphosphate reductase**. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v. 99, n. 19, p. 12108-12113, setembro, 2002;
- ALLINGER, N. L.; CAVA, M. P. **Química orgânica**. 2 ed. RIO DE JANEIRO: LTC, 2011;
- ALMEIDA, P. R. PIMENTA, M.A.; MONTEIRO, P. C.; NOSANCHUK, J. D.; OLIVEIRA, R. M. Z. **Immunoglobulins g, m, and a against sporothrix schenckii exoantigens in patients with sporotrichosis before and during treatment with itraconazole**. Clinical and vaccine immunology, v. 14, n. 9, p. 1149-1157, setembro, 2007;
- ÁLVARES, C. A.; SVIDZINSKI, T.; CONSOLARO, M. **Candidíase vulvovaginal: fatores predisponentes do hospedeiro e virulência das leveduras**. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. 2007;
- ANVISA. **Resolução RDC N° 10, 9 de Março 2010**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010;
- BARBEDO, L. S.; SGARBI, D. B. G. **Candidíase**. Jornal brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis, Rio de Janeiro, v. 22, n. 1, p. 22-38, 2010;
- BARTOLOME, A.P.; VILLASEÑOR, I.M.; YANG, W.C. **BIDENS PILOSA L. (Asteraceae): botanical properties, traditional uses, phytochemistry and pharmacology**. Evidence based complementary and alternative medicine, v. 2013, p.1-51, abril 29, 2013;
- BERGAMASCHI, J. M. **Terpenos**. Laboratorio de pesquisa e desenvolvimento da terpenoil tecnologia organica, JUNDIAI, SP. 2013.

PRODUÇÃO DE TERPENÓIDES COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA FRENTE À
CANDIDA SP

Disponível em: < <http://www.terpenoil.com.br/tecnologia/terpenos.pdf> >.

Acesso em: 22 de setembro de 2016;

Boatto H F, Moraes MS, Machado AP, Girão MJBC, Fischman O.

Correlação entre os resultados laboratoriais e os sinais e sintomas clínicos das pacientes com candidíase vulvovaginal e relevância dos parceiros sexuais na manutenção da infecção em São Paulo. Rev Bras de Ginecol e Obst. Rio de Janeiro. 2007;

BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos.** 2009;

BRASIL. Ministério da Saúde. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME).** 2013;

BRUNETON, J; DEL FRESMO, Á. V. Farmacognosia. Fitoquímica. **Plantas medicinais.** 2.ed. Zaragoza (ESP): Acribia, 2001;

COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T. **Epidemiologia das infecções hematogênicas por Candida spp.** Rev. Soc. Bras. Med. Trop. Uberaba, v.36 n.5, set/out, 2003;

DEBA, F; XUAN, T. D.; YASUDA, M.; TAWATA, S. **Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *bidens pilosa* linn. Var. *Radiata*.** Food control, V. 19, P. 346-352, ABRIL 2008;

GILBERT, B; ALVES, L. F.; FAVORETO, R. *BIDENS PILOSA* L.

Asteraceae (compositae; subfamília heliantheae. Revista Fitos, v. 8, p. 1-72, jan-mar, 2013;

Giolo MP, Svidzinski TI E. **Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia.** Jornal Brasileiro de Patol e Med Laborat, Rio de Janeiro. 2010;

HIBBETT, D. S.; BINDER, M.; BISCHOFF, J.F.; BLACKWELL, M.; CANNON, P. F. **A higher-level phylogenetic classification of the fungi.** Mycological Research, LONDRES, v.111, p. 509-547, 2007;

Holanda AARD, Fernandes ACS, Bezerra CM, Ferreira M AF, Holanda MRR, Holanda JCP, et al. **Candidíase vulvovaginal: sintomatologia, fatores de risco e colonização anal concomitante.** Rev Bras de Ginecol e Obst., Rio de Janeiro. 2007;

Kauffman, C. A. **Candidíase.** In: GOLDMAN, L.; AUSIELLO, D. Cecil: Tratado de Medicina Interna. 22. ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2005;

KOCH, D.; LEITZKE, M.; MONZANI, R. M. **Extração de óleos essenciais por meio de hidrodestilação para controle de fitopatógenos.** IFC Eventos, 2014. Disponível em: < <http://eventos.ifc.edu.br/wp-content/uploads/sites/5/2014/09/CAA-13.pdf> >. Acesso em 01 de outubro de 2016;

KVIECINSKI M. R., FELIPE K.B., SCHOENFELDER T., DE LEMOS WIESE L. P., ROSSI M. H., GONÇALEZ E., FELICIO J. D., FILHO D. W.,

PRODUÇÃO DE TERPENÓIDES COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA FRENTE À
CANDIDA SP

- PEDROSA R. C. **Study of the antitumor potential of *Bidens pilosa* (Asteraceae) used in Brazilian folk medicine.** J Ethnopharmacol. 117:69-75, 2008;
- KUMARI P., MISRA K., SISODIA B. S., FARIDI U., SRIVASTAVA S., LUQMAN S., DAROKAR M. P., NEGI A. S., GUPTA M. M., SINGH S. C., KUMAR J. K. **A promising anticancer and antimalarial component from the leaves of *Bidens pilosa*.** Planta Med. 1:59-61, 2009.
- MORAES, A. M. L.; PAES, R. A.; HOLANDA, V. L. **Micologia: conceitos e métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde,** RIO DE JANEIRO, v. 4, p. 496, 2009;
- MERIGA, B.; MOPURI, R.; MURALIKRISHNA, T. **Insecticidal, antimicrobial and antioxidant activities of bulb extracts of *Allium sativum*.** Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, v. 5, n. 5, p. 391-395, 2012. 150 Rev. Saúde Públ. Santa Cat., Florianópolis, v. 8, n. 2, p. 135-152, maio/ago. 2015;
- MOSLEMI, H. R, et al. **Antimicrobial Activity of *Artemisia absinthium* Against Surgical Wounds Infected by *Staphylococcus aureus* in a Rat Model.** Indian Journal of Microbiology, v. 52, n. 4, p. 601-604, 2012;
- MURRAY, M.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia médica.** ELSEVIER, 5ª EDIÇÃO. RIO DE JANEIRO, RJ. 2006;
- NCEZID (Centers for Disease Control and Preventio); DFWED (Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases). **Candidiasis.** U.S. Departament Of Health & Human Services, ATLANTA, GA. U.S.A, 2014;
- NETO, R. A. B. **Terapia antifúngica.** Medicina net, 2009. Disponível em: < http://www.medicinanet.com.br/conteudos/casos/2352/terapia_antifungica.htm >. Acesso em 22 de setembro de 2016;
- NUCCI, M.; COLOMBO, A. L. **Emergence of resistant *Candida* in neutropenic patients.** Braz J Infect Dis. Salvador, v.6 n.3 jun. 2002;
- OLIVEIRA, R. M. Z.; MUNIZ, M. M.; WANKE, B. **Histoplasmose.** In: COURA, J.R. - **Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias.** RIO DE JANEIRO: GUANABARA KOOGAN, 2005;
- RIBEIRO, M. C.; CAPÍTULO 11: **Antibiograma.** In: STELATO, M. M. **Microbiologia prática: aplicações de aprendizagem de microbiologia básica – bactérias, fungos e vírus.** Editora Atheneu, SÃO PAULO, 2ª ED, 2011;
- SERRACARBASSA, P. D.; DOTTO, P. **Endoftalmite por *Candida albicans*.** Arq. Bras. Oftalmol. São Paulo, v.66 n.5, set/out, 2003;
- PENNA, C.; MARINO, S.; VIVOT, E.; CRUAÑES, M. C.; MUÑOZ, J. D.; CRUAÑES, J.; FERRARO, G.; GUTKIND, G.; MARTINO, V. Antimicrobial activity of Argentine plants use in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. J Ethnopharmacol, v. 77, p. 37-40, 2001;

PRODUÇÃO DE TERPENÓIDES COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA FRENTE À
CANDIDA SP

SILVA V.; M CRISTINA DÍAZ J.; NALDY FEBRÉ Y. **Red De Diagnóstico En Micología Médica.** Vigilancia De La Resistencia De Leveduras A Antifúngicos. Rev. Chil. Infectol. Santiago v.19, 2002;

SOMENZI, C. C.; RIBEIRO, T. S.; MENEZES, A. **Características particulares da micologia clínica e o diagnóstico de micoses superficiais.** NewsLab, ed. 77, 2006;

Val ICC, Filho GLA. **Abordagem atual da candidíase vulvovaginal. J Bras de Doenças Sexualmente Transmissíveis.** 2001;

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014.** 2014;

Zimmermann JB, Paiva AO, Costa ACS, Sousa AMGV, Chagas AR, Lima AAC. **Validade do diagnóstico clínico de candidíase vulvovaginal.** HU Rev, Juiz de Fora. 2009.