

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

LÍVIA ABREU PINHEIRO DE SOUZA

**BIOPROSPECÇÃO DE EXTRATOS DE *Schinus* sp. COM ATIVIDADE
ANTIFÚNGICA FRENTE *Candida* spp. E SUA INTERAÇÃO COM DROGA
ANTIFÚNGICA**

DOURADOS-MS

2025

LÍVIA ABREU PINHEIRO DE SOUZA

**BIOPROSPECÇÃO DE EXTRATOS DE *Schinus* sp. COM ATIVIDADE
ANTIFÚNGICA FRENTE *Candida* spp. E SUA INTERAÇÃO COM DROGA
ANTIFÚNGICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal da Grande Dourados, como parte
dos requisitos para obtenção do título de Biotecnologista
sob a orientação da Profa. Dra. Fabiana Gomes da Silva
Dantas.

DOURADOS-MS

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S729b Souza, Livia Abreu Pinheiro De
BIOPROSPECÇÃO DE EXTRATOS DE Schinus sp. COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA
FRENTE Candida spp. E SUA INTERAÇÃO COM DROGA ANTIFÚNGICA. [recurso eletrônico]
/ Livia Abreu Pinheiro De Souza. -- 2025.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: Fabiana Gomes da Silva Dantas.
TCC (Graduação em Biotecnologia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2025.
Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Plantas medicinais. 2. Infecções fúngicas. 3. Sinergia farmacológica. I. Dantas, Fabiana
Gomes Da Silva. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

LÍVIA ABREU PINHEIRO DE SOUZA

**BIOPROSPECÇÃO DE EXTRATOS DE *Schinus* sp. COM ATIVIDADE
ANTIFÚNGICA FRENTE *Candida* spp. E SUA INTERAÇÃO COM DROGA
ANTIFÚNGICA.**

O presente Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biotecnologia da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais da Universidade Federal da Grande Dourados foi considerado Aprovado em sua forma final pela banca examinadora.

Dourados, 04/06/2025.

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Fabiana Gomes da Silva Dantas.
Orientadora e Presidente da banca – UFGD/FCBA.

Profa. Dra. Fernanda de Oliveira Galvão dos Santos.
Membro da banca – UFGD.

João Vítor de Andrade dos Santos.
Membro da banca – UFGD.

DEDICATÓRIA

Às três pessoas que são o meu porto seguro nesta vida: meus pais e minha irmã. A vocês, que me ensinaram, desde sempre, que os sonhos são possíveis quando se tem fé, coragem e pessoas que nos amam de verdade. Com todo o amor e gratidão que cabem no meu coração, dedico esta conquista a vocês.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), por ter sido muito mais do que um espaço de formação acadêmica. Foi aqui que encontrei desafios, aprendizados e cresci como profissional e como pessoa.

À minha orientadora, Profa. Dra. Fabiana Gomes da Silva Dantas, pela orientação, paciência, dedicação e incentivo durante todo esse processo. Agradeço imensamente por acreditar em mim e me guiar com tanto cuidado e generosidade.

Ao Grupo de Pesquisa em Ensaios Microbiológicos a Profa. Dra. Kelly Mari Pires de Oliveira, que se tornou parte essencial da minha trajetória acadêmica. Aos colegas e amigos que dividiram comigo não só conhecimento, mas também companheirismo e apoio no laboratório. Agradeço, em especial, ao João Victor, Cleison Rocha e Diana Liz, por todo auxílio, disposição e parceria na realização desta pesquisa.

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBITI) e à FUNDECT, pelo apoio e incentivo à pesquisa, que foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho e para minha formação.

Aos meus amigos que fizeram parte dessa caminhada, enchendo meus dias de leveza, boas risadas e apoio nos momentos mais difíceis. Maria Luísa, João Paulo, Sabrina Nascimento, Larissa Marques, Williams Júnior e Kauanny Wictoria, obrigada por cada momento, cada conversa e cada lembrança que levo com muito carinho.

E, por fim, à minha família, que é o meu refúgio e meu alicerce, não importa onde eu esteja. Aos meus pais e à minha irmã, que sempre me encheram de amor, apoio e incentivo. Obrigada por serem minha base, por acreditarem nos meus sonhos e por estarem comigo em cada passo dessa caminhada.

A Deus, por ser minha luz, meu amparo e minha companhia em todos os momentos. Por me encher de coragem, esperança e paz, mesmo nos dias mais difíceis. A Ele, minha gratidão por ter guiado meus passos até aqui.

RESUMO

A crescente incidência de infecções fúngicas e a emergência de resistência a antifúngicos convencionais, como o fluconazol, ressaltam a necessidade urgente de novas abordagens terapêuticas. Espécies como *Candida albicans* e *Candida glabrata* estão entre as principais responsáveis por esse cenário. Essas infecções tornaram-se cada vez mais prevalentes em ambientes hospitalares e comunitários, sendo *Candida albicans* responsável por grande parte dos casos. *Candida glabrata*, por sua vez, tem se destacado por apresentar resistência natural e adquirida a diversos antifúngicos, dificultando ainda mais o tratamento. Nesse contexto, as plantas medicinais, notadamente *Schinus weinmanniifolia*, tem surgido como alternativas potenciais para o desenvolvimento de agentes antifúngicos eficazes. A exploração de composições naturais é uma estratégia promissora, visto que muitas plantas possuem propriedades bioativas que podem ser úteis tanto na prevenção quanto no tratamento de infecções. O objetivo deste trabalho foi determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato aquoso das folhas de *Schinus weinmanniifolia* e avaliar a sinergia com o fluconazol frente a cepas de *Candida albicans* e *Candida glabrata*. A metodologia envolve a coleta das folhas da planta em regiões de Mato Grosso do Sul, seguida da preparação do extrato aquoso por remoção com água fervente. Após a filtração e liofilização, o extrato foi testado por microdiluição em caldo para determinar um CIM individual do extrato e do fluconazol. Posteriormente, a interação sinérgica foi comprovada utilizando o método de checkerboard, com o cálculo do índice de Concentração Inibitória Fracionada (CIF). Os resultados demonstram que o extrato aquoso apresentou CIM de 1,95 µg/mL para *Candida albicans* e 0,48 µg/mL para *Candida glabrata*, valores que indicam forte atividade antifúngica. A combinação do extrato com fluconazol revelou um efeito sinérgico significativo, com índices CIF de 0,48 para *C. albicans* e 0,75 para *C. glabrata*, demonstrando que a associação dos dois agentes potencializa a eficácia antifúngica, inclusive contra cepas clinicamente resistentes ao fluconazol. Conclui-se que o extrato aquoso de *S. weinmanniifolia* apresenta relevante potencial terapêutico, tanto isoladamente quanto em associação com antifúngicos convencionais. A sinergia observada sugere uma alternativa promissora no enfrentamento da resistência fúngica, reforçando a importância da investigação de compostos naturais para o desenvolvimento de novas terapias.

Palavras-chave: Plantas medicinais, Infecções fúngicas, Sinergia farmacológica.

ABSTRACT

The increasing incidence of fungal infections, combined with the emerging resistance of species such as *Candida albicans* and *Candida glabrata* to conventional antifungals like fluconazole, highlights the urgent need for new therapeutic approaches. Fungal infections are becoming increasingly prevalent in both hospital and community settings, with *C. albicans* accounting for a significant proportion of cases. Meanwhile, *C. glabrata* has drawn attention due to its intrinsic and acquired resistance to several antifungal agents. In this context, medicinal plants—particularly *Schinus weinmanniifolia*—have emerged as potential alternatives for the development of effective antifungal agents. Exploring natural compounds is a promising strategy, as many plants possess bioactive properties that may be useful for both the prevention and treatment of infections. This study aimed to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of the aqueous leaf extract of *S. weinmanniifolia* and to evaluate its synergy with fluconazole against *C. albicans* and *C. glabrata* strains. Leaves were collected in regions of Mato Grosso do Sul, Brazil, and the aqueous extract was prepared by infusion in boiling water. After filtration and lyophilization, the extract was tested by broth microdilution to determine the individual MICs of the extract and fluconazole. The synergistic interaction was then evaluated using the checkerboard method, with calculation of the Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI). The results showed that the aqueous extract presented MICs of 1.95 µg/mL for *C. albicans* and 0.48 µg/mL for *C. glabrata*, indicating strong antifungal activity. The combination of the extract with fluconazole revealed a significant synergistic effect, with FICI values of 0.48 for *C. albicans* and 0.75 for *C. glabrata*, demonstrating that the association enhances antifungal efficacy, even against clinically resistant strains. It is concluded that the aqueous extract of *S. weinmanniifolia* presents significant therapeutic potential, both alone and in combination with conventional antifungals. The observed synergy suggests a promising alternative for overcoming fungal resistance, reinforcing the importance of investigating natural compounds for the development of new therapies.

Keywords: Medicinal plants, Fungal infections, Pharmacological synergy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

Figura 1 – Mecanismos fisiopatológicos da candidíase vulvovaginal	17
Figura 2 – Isobogramas da atividade sinérgica do extrato aquoso das folhas de <i>Schinus weinmanniifolia</i> Mart. ex Engl. (EASW) e fluconazol frente às cepas testadas	30
Figura 3 – Microscopia óptica da morfologia e organização celular de <i>C. albicans</i> e <i>C. glabrata</i> após tratamento com EASW, fluconazol e combinação	30

TABELAS

Tabela 1 – Concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$) do extrato aquoso das folhas (EASW) de <i>Schinus weinmanniifolia</i> Mart. ex Engl. frente a espécies de <i>Candida</i>	27
Tabela 2 – Concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$) do extrato aquoso das folhas (EASW) de <i>Schinus weinmanniifolia</i> Mart. ex Engl. e Fluconazol contra <i>Candida albicans</i> (isolados de candidíase vulvovaginal)	28
Tabela 3 – Atividade sinérgica do extrato aquoso das folhas de <i>Schinus weinmanniifolia</i> Mart. ex Engl. em combinação com fluconazol frente a <i>C. albicans</i> ATCC 90028, isolado vulvovaginal CMRP3480 e <i>C. glabrata</i> ATCC 2001	29

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	OBJETIVOS.....	15
2.1	Objetivo Geral.....	15
2.2	Objetivos Específicos.....	15
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3.1	Candidíase vulvovaginal.....	16
3.2	<i>Candida albicans</i>.....	17
3.3	<i>Candida glabrata</i>.....	18
3.4	Tratamento da candidíase vulvovaginal.....	19
3.4.1	<i>Fluconazol</i>	20
3.4.2	<i>Novos compostos</i>	22
3.4.3	<i>Plantas medicinais</i>	22
3.5	Sinergia.....	23
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
4.1	Coleta de material vegetal e preparo do extrato aquoso das folhas de <i>Schinus weinmanniifolia</i> Mart. ex Engl.....	25
4.2	Microrganismos.....	25
4.3	Determinação da atividade antifúngica de EASW e Fluconazol.....	25
4.4	Atividade combinada de EASW com fluconazol.....	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27

5.1	Atividade antifúngica de EASW e Fluconazol frente a espécies de Candida.....	27
5.2	Determinação da atividade antifúngica de EASW e fluconazol frente a isolados de candidíase vulvovaginal.....	27
5.3	Atividade combinada de EASW com fluconazol.....	28
6	CONCLUSÃO.....	31
	REFERÊNCIAS.....	32

1 INTRODUÇÃO

Candida é um gênero de leveduras que integra a microbiota normal dos seres humanos, colonizando a pele e as mucosas do trato digestivo, oral, urinário e vaginal. Aproximadamente 200 espécies pertencem a esse gênero, das quais cerca de 20 são responsáveis por infecções em humanos. Em situações de desequilíbrio do sistema imunológico ou da flora normal do hospedeiro, essas leveduras podem se tornar patogênicas, sendo consideradas microrganismos oportunistas. (Girsh et al., 2009)

Dentre as espécies que fazem parte desse gênero, *Candida albicans* é considerada a espécie mais patogênica aos seres humanos, por ser uma levedura oportunista sua patogênicidade esta relacionada as condições de disbiose causada por antibióticos, imunossupressão iatrogênica ou intervenções médicas que comprometem a integridade das barreiras mucocutâneas e dos mecanismos de defesa do hospedeiro (Lopes & Lionakis, 2021). Tendo como outros fatores identificados a capacidade de adesão, formação de biofilme, hidrofobicidade de superfície celular, produção de enzimas hidrolíticas, mudança morfológica e a capacidade de multiplicação em altas temperaturas (Kim & Sudbery, 2011).

Candida glabrata também é caracterizada como uma levedura oportunista, sendo responsável por 24% de infecções na corrente sanguínea, sendo a segunda espécie mais comum depois de *C. albicans* em algumas regiões, já que sua prevalência muda geograficamente (Falagas, Roussos, & Vardakas, 2010; Hajjeh et al., 2004). Essa espécie é caracterizada como um agente causador de infecções no trato urinário, vaginal e na corrente sanguínea principalmente em idosos, diabéticos e receptores de transplante de órgãos, podendo ser associadas com infecções mucosas ou sistêmicas (Fidel; Vázquez; Sobel, 1999).

As espécies de *Candida albicans* e *Candida glabrata* são as principais protagonistas da candidíase vaginal, uma condição ginecológica extremamente comum, afetando aproximadamente 75% das mulheres em idade reprodutiva pelo menos uma vez na vida, sendo 50% um novo surto e 5% são acometidas com o caráter recorrente (CVVR) (Mardh et al., 2002).

O uso exagerado de antibióticos e corticoides fez com que as infecções fúngicas aumentassem, especialmente por *C. Albicans*, que se caracterizava como comensal na microbiota normal, mas que agora invade os tecidos e se instala nos indivíduos causando danos. Tem sido observado o crescimento da frequência de candidíase vulvovaginal (CVV), ligado diretamente com os fatores de virulência da levedura e sua capacidade de se adaptar, e sua grande variabilidade genotípica (Farhan et al., 2018). Um dos principais desafios no

tratamento de infecções por *C. glabrata* é a crescente resistência aos antifúngicos, especialmente aos azóis e equinocandinas. Isso se deve principalmente ao aumento da expressão de bombas de efluxo e de reguladores transcricionais que conferem resistência a múltiplas drogas. A seleção de linhagens com deficiência mitocondrial também contribui para a resistência aos azóis, uma vez que a homeostase lipídica é afetada (Nucci; Colombo, 2002).

O fluconazol é um antifúngico triazólico, que atua por meio da inibição da enzima lanosterol 14 α -desmetilase (citocromo P450), codificada pelo gene ERG11, na via de biossíntese do ergosterol. De forma mais detalhada, o átomo de nitrogênio livre do anel azólico se liga a um átomo de ferro no grupo heme da enzima, impedindo a ativação do oxigênio e, consequentemente, a desmetilação do lanosterol, inibindo o processo de biossíntese do ergosterol (Hitchcock, 1991). Sendo o ergosterol um componente essencial das membranas celulares fúngicas, essa inibição é tóxica, gerando o acúmulo de esteróis metilados na membrana celular fúngica, consequentemente o crescimento celular é interrompido (Joseph-Horne; Hollomon, 1997; Heimark et al., 2002).

Dentre as diversas alternativas para o tratamento de infecções fúngicas, o uso de plantas medicinais é uma realidade que faz parte de diversas culturas. Em diferentes estudos é possível observar o caminho que a humanidade traçou entre o uso das plantas, o conhecimento comum e a aplicação de seus compostos. Na pré-história, o uso de plantas na alimentação e com finalidades terapêuticas é registrada em diferentes escrituras arqueológicas, estando associadas na maioria das vezes a rituais religiosos. O período da antiguidade marcou a mudança do uso das plantas medicinais de simbologia mágica para o uso empírico-racional (Rocha et al., 2021).

A família Anacardiaceae é constituída por 81 gêneros e 800 espécies distribuídas em regiões tropicais, subtropicais e temperadas. No Brasil, são registrados 15 gêneros (Mitchell et al., 2022; Silva-Luz, 2020). Totalizando 29 espécies originárias da América do Sul, este gênero apresenta distribuição nas cinco regiões do Brasil e em países como Peru, Chile, Argentina, Paraguai e com registros de cultivo no Egito (El-nashar et al., 2021; Silva-Luz, 2020).

Schinus weinmanniifolia Mart. ex Engl. é uma espécie pouco estudada cientificamente, encontrada nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil, além de Paraguai, Uruguai e Argentina (Luz, 2011). Diferente da *S. terebinthifolius*, que é uma árvore, *S. weinmanniifolia* é um subarbusto de rápido crescimento. Apenas dois estudos abordaram suas atividades biológicas: Velázquez et al. (2003) investigaram o potencial antioxidante das folhas, e Hernandez et al. (2014) analisaram o perfil químico e a atividade antimicrobiana do

óleo essencial das folhas. Considerando o uso farmacêutico de *S. terebinthifolius*, *S. weinmanniifolia* pode ter potencial terapêutico a ser investigado.

A sinergia, um princípio fundamental na natureza, refere-se aos efeitos combinados ou cumulativos gerados por interações entre diversas forças, partículas, substâncias ou indivíduos dentro de um determinado contexto. Derivada do grego *synergos*, que significa "trabalhando juntos", a sinergia é frequentemente resumida pelo conceito de que "o todo é maior que a soma das partes", como descrito por Aristóteles em *Metafísica*. No entanto, a sinergia nem sempre resulta em um efeito positivo ou maior; em alguns casos, o resultado é simplesmente diferente. Na farmacologia, a sinergia é evidenciada pelo uso combinado de medicamentos e extratos vegetais, que pode potencializar a atividade terapêutica em comparação com substâncias isoladas. A combinação de medicamentos que atuam em múltiplos alvos simultaneamente, conhecida como multiterapia, tem demonstrado ser mais eficaz e menos suscetível à resistência adaptativa do que a monoterapia, especialmente no tratamento de condições complexas como câncer e doenças infecciosas (Csenmely, Agoston, Pongor, 2005; Keith, Zimmermann, 2004).

Diante da escassez de estudos sobre as propriedades bioativas de *S. weinmanniifolia* e a necessidade de novos extratos que possam auxiliar no tratamento de infecções fúngicas, este trabalho visa avaliar o potencial antifúngico e o sinergismo com fluconazol do extrato aquoso das folhas de *S. weinmanniifolia*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial antifúngico do extrato aquoso das folhas de *Schinus weinmanniifolia* frente a cepas de *Candida albicans* e *Candida glabrata*, bem como investigar a ação sinérgica do extrato em combinação com o fluconazol.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato aquoso das folhas de *Schinus weinmanniifolia* frente a cepas padrão e isoladas de *Candida albicans* e *Candida glabrata*.
- Comparar a atividade antifúngica do extrato vegetal com a do fluconazol, observando diferenças de eficácia entre as espécies de leveduras testadas.
- Avaliar a interação sinérgica entre o extrato de *S. weinmanniifolia* e o fluconazol por meio da metodologia de checkerboard e cálculo do índice de concentração inibitória fracionada (CIF).

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Candidíase vulvovaginal

A candidíase vulvovaginal (CVV) é uma infecção fúngica comum que acomete o trato genital feminino, sendo causada pelo crescimento excessivo de fungos do tipo levedura, principalmente do gênero *Candida*. *Candida albicans* é responsável por cerca de 80 a 90% dos casos, seguida por espécies não-albicans, como *Candida glabrata*, que também têm relevância clínica (Sobel, 1993; Corsello et al., 2003; Cotran; Kumar; Collins, 2000; Pichová et al., 2001). Trata-se de uma condição ginecológica extremamente prevalente, afetando aproximadamente 75% das mulheres em idade reprodutiva pelo menos uma vez na vida. Desses casos, 50% apresentam recorrência e cerca de 5% evoluem para a forma recorrente (CVVR) (Mardh et al., 2002). Além da alta prevalência, a infecção pode causar desconforto significativo e impacto negativo na qualidade de vida das pacientes, sendo a patogenicidade de *C. albicans* intensificada por seus fatores de virulência.

Do ponto de vista epidemiológico, *C. albicans* compõe a microbiota vaginal normal de 20 a 25% das mulheres saudáveis (Sobel, 1993). Contudo, sob determinadas circunstâncias, esse fungo pode proliferar excessivamente e desencadear o quadro clínico da candidíase. Dentre os principais fatores de risco associados, destacam-se o uso de contraceptivos orais, antibioticoterapia, gestação e diabetes mellitus (Rosa; Rumel, 2004).

Clinicamente, os principais sintomas incluem prurido, sensação de queimação, corrimento vaginal branco e espesso, dispareunia e ardência ao urinar, especialmente no período pré-menstrual (Naumova; Castelo-Branco, 2018). O diagnóstico, muitas vezes presuntivo, é realizado por anamnese e exame clínico, sendo complementado por técnicas laboratoriais como o teste de Whiff, coloração de Gram, cultivo em ágar Sabouraud e meios cromogênicos (Quan, 2010).

Fisiopatologicamente, *C. albicans* possui mecanismos importantes de virulência, como a produção de estruturas de adesão ao tecido hospedeiro, formação de biofilmes, produção de tubos germinativos e de exoenzimas como proteinases e fosfolipases, além de características como hidrofobicidade da superfície celular, variabilidade genotípica, tigmotropismo e switching fenotípico (Figura 1) (Gulati; Nobile, 2016; Zhu, 2010).

Figura 1. Mecanismos fisiopatológicos da candidíase vulvovaginal.



O tratamento geralmente se baseia-se em antifúngicos azólicos, como fluconazol, itraconazol e voriconazol, administrados por via tópica ou oral. Destaca-se o fluconazol pela sua eficácia na inibição da síntese de ergosterol, componente essencial da membrana celular fúngica. Entretanto, o uso indiscriminado destes fármacos tem levado ao aumento da resistência de cepas de *Candida*, contribuindo para a recorrência da infecção (Alfouzan; Dhar, 2017).

Apesar dos tratamentos disponíveis, persistem desafios relacionados à eficácia, acessibilidade e efeitos adversos, o que reforça a necessidade de desenvolvimento de terapias alternativas, seguras e de baixo custo.

3.2 *Candida albicans*

O gênero *Candida* é composto por aproximadamente 200 espécies de leveduras diferentes, que habitam o ser humano em diferentes partes do corpo, como cavidade bucal, pele, secreções brônquicas, vagina, orofaringe e urina. Dentre as espécies desse gênero, *Candida albicans* se destaca por seus aspectos comensais e patogênicos, além de apresentar a capacidade de ocupar diversos habitats, diferentemente das demais (Kurtzmann; Fell, 1998; Odds et al., 1988; Rippon, 1974).

C. albicans caracteriza-se como um organismo polimórfico, podendo alternar entre as formas de blastoconídio (levedura), hifa e pseudo-hifa. Também é capaz de formar clamidoconídios, que são esporos arredondados com parede celular espessa (Chaffin et al., 1998; Lacaz; Porto; Martins, 1991). Suas colônias em ágar Sabouraud são úmidas, cremosas, lisas ou rugosas, com coloração branco-amarelada e odor característico. A espécie também forma tubos germinativos, assimila carbono e realiza fermentação. Em condições in vitro, sua morfologia pode ser alterada por variações de pH, temperatura e concentração de CO₂ (Chitty; Fraser, 2017). Seu crescimento ótimo ocorre entre 20 °C e 38 °C, com pH de 2,5 a 7,5. Microscopicamente, suas células medem de 3 a 5 µm de diâmetro, possuem formato esférico, ovóide ou alongado, e coram-se como Gram-positivas (Lu; Su; Liu, 2014).

A patogenicidade de *C. albicans* está relacionada a fatores do sistema imune do hospedeiro e aos mecanismos de virulência do fungo, como adesão, formação de biofilme, produção de enzimas hidrolíticas, mudança morfológica e crescimento em altas temperaturas. Quando em forma de hifa, torna-se invasiva e patogênica, com maior capacidade de

penetração e adesão às células epiteliais humanas. Em sua forma leveduriforme, comporta-se como comensal, o que a diferencia de outras espécies fúngicas, que se tornam patogênicas ao mudar para forma leveduriforme após contato com tecidos humanos (Lu; Su; Liu, 2014).

A colonização por *C. albicans* geralmente ocorre durante o parto, quando o recém-nascido entra em contato com o canal vaginal, passando a abrigar o microrganismo na cavidade oral e no trato gastrointestinal inferior. A espécie então se estabelece como parte da microbiota normal e comensal (Mayer; Wilson; Hube, 2013).

3.3 *Candida glabrata*

Candida glabrata é um patógeno oportunista responsável por cerca de 29% das infecções na corrente sanguínea, sendo a segunda espécie mais prevalente após *C. albicans*, com variação geográfica significativa (Pfaller et al., 2011; Montagna et al., 2014). Essa espécie está associada a infecções no trato urinário, vaginal e na corrente sanguínea, sobretudo em pacientes idosos, diabéticos e imunocomprometidos, como receptores de transplantes (Fidel; Vázquez; Sobel, 1999; Achkar; Fries, 2010).

Morfolologicamente, *C. glabrata* não apresenta dimorfismo e forma blastoconídios pequenos (1–4 µm), não formando pseudohifas em temperaturas superiores a 37 °C. Em ágar Sabouraud, suas colônias apresentam coloração creme, superfície lisa e brilho. Seu genoma é haploide, em contraste com o de *C. albicans* e outras espécies, e pode ser distinguido também pelo rRNA da subunidade pequena (Celerino et al., 1991).

Essa levedura coloniza principalmente o trato gastrointestinal e pode disseminar-se para outros órgãos, como fígado e rins, favorecida por comprometimentos da barreira mucosa e do sistema imunológico. Estudos demonstram sua capacidade de sobreviver e se replicar dentro de macrófagos, evitando sua eliminação pelo sistema imune (Isenberg et al., 1989).

A adesão às células hospedeiras é um fator crucial para sua virulência. A família de genes EPA codifica proteínas de superfície celular envolvidas nesse processo. Outras proteínas, como as aspartil proteases ligadas a glicosilfosfatidilinositol (GPI), também contribuem para sua virulência e formação de biofilmes (Riera et al., 2012). Além disso, *C. glabrata* adapta-se a ambientes hostis utilizando fontes de carbono alternativas, como o lactato, em condições de hipóxia. Também possui mecanismos de resistência ao estresse oxidativo e pode sobreviver em macrófagos (Ueno et al., 2011).

O tratamento das infecções causadas por *C. glabrata* é desafiador devido à sua crescente resistência a antifúngicos, especialmente aos azóis e equinocandinas. Isso se deve à

expressão aumentada de bombas de efluxo e reguladores transcricionais, bem como à seleção de linhagens "petite" com deficiência mitocondrial, que apresentam resistência aumentada devido a alterações na homeostase lipídica (Nucci; Colombo, 2002).

3.4 Tratamento da candidíase vulvovaginal

Na prática clínica, o tratamento refere-se a abordagens farmacológicas, higiênicas, cirúrgicas ou físicas com o objetivo de aliviar ou eliminar a enfermidade. No entanto, o tratamento com antifúngicos vem se tornando desafiador, pois muitas espécies de *Candida* desenvolvem resistência, frequentemente devido ao uso inadequado e crescente desses medicamentos (Naglik et al., 2003; Brasil, 2020).

O tratamento é geralmente iniciado após o aparecimento dos sintomas, visando impedir o crescimento fúngico e reduzir a sintomatologia. As medicações podem ser de uso tópico ou oral, incluindo cremes, loções, comprimidos vaginais e cápsulas orais. Um exemplo é o uso de isoconazol nitrato em forma de creme vaginal (Brasil, 2010).

Os antifúngicos azólicos são divididos em imidazólicos e triazólicos, ambos atuando na inibição da enzima lanosterol 14 α -desmetilase, essencial para a síntese do ergosterol na membrana celular fúngica. Essa inibição afeta a fluidez da membrana e sua função. Fármacos como fluconazol, itraconazol, cetoconazol, voriconazol, posaconazol e ravuconazol são amplamente utilizados, destacando-se por sua eficácia e menor toxicidade em relação à anfotericina B (Santos, 2018; Moraes; Félix; Badin, 2022).

Embora o tratamento da CVV esteja centrado no uso de antifúngicos, especialmente os pertencentes às classes dos azólicos, poliênicos e equinocandinas, alguns antibióticos também têm sido utilizados em casos específicos, principalmente quando há suspeita de coinfeções bacterianas associadas ou quando a infecção fúngica é secundária a tratamentos prolongados com antibióticos. Entre os antibióticos mais frequentemente prescritos estão a metronidazol e a clindamicina, ambos com ação sobre bactérias anaeróbias, e o tinidazol, com perfil semelhante ao metronidazol. No entanto, é fundamental que o uso de antibióticos em quadros de candidíase vulvovaginal seja criteriosamente avaliado, uma vez que sua administração indiscriminada pode contribuir para o desequilíbrio da microbiota vaginal e favorecer a proliferação de leveduras do gênero *Candida*.

A terapia medicamentosa utilizando azólicos orais apresenta taxas de cura mais bem comparadas a antifúngicos tópicos, sendo mais utilizado de preferência por ser uma terapia oral trazendo praticidade na sua administração. No entanto, o uso profilático e prolongado em

baixas concentrações tem acarretado o surgimento de resistência (Nucci; Colombo, 2002). Atualmente, as opções terapêuticas mais efetivas atualmente no tratamento de CVV são compostas por quatro classes, sendo eles: poliênicos, triazólicos, equinocandinas e flucitosina (Galle; Gianinni, 2004).

Os poliênicos, como a nistatina e a anfotericina B, atuam ligando-se ao ergosterol e formando poros na membrana celular fúngica, promovendo a liberação de íons e morte celular. Contudo, interações com o colesterol humano podem causar efeitos adversos graves, como nefrotoxicidade (Santos, 2018; Conte, 2021).

As equinocandinas, como caspofungina, micafungina e anidulafungina, são eficazes contra *Candida* spp. e inibem a síntese da enzima 1,3- β -glucano, essencial para a integridade da parede celular. Por serem administradas por via intravenosa, não são recomendadas para o tratamento ambulatorial da CVV (Santos, 2018).

Diante da resistência fúngica, torna-se necessário utilizar combinações de antifúngicos com diferentes mecanismos de ação, além de explorar terapias alternativas, tanto farmacológicas quanto naturais.

3.4.1 Fluconazol

O fluconazol é um antifúngico triazólico que atua inibindo a enzima lanosterol 14 α -desmetilase (citocromo P450), codificada pelo gene ERG11, envolvida na biossíntese do ergosterol. O nitrogênio do anel azólico liga-se ao ferro do grupo heme da enzima, impedindo a ativação do oxigênio e, conseqüentemente, a desmetilação do lanosterol. A inibição da produção de ergosterol compromete a integridade da membrana celular fúngica, resultando em acúmulo de esteróis tóxicos e interrupção do crescimento celular (Hitchcock, 1991; Joseph-Horne; Hollomon, 1997; Heimark et al., 2002).

O fluconazol apresenta boa solubilidade em água e está disponível em cápsulas orais, solução oral e formulações intravenosas. Sua absorção é rápida, com pico plasmático entre 1 e 3 horas após administração oral (Lim et al., 1993; Debruyne; Ryckelynck, 1993; Humphrey; Jevons; Tarbit, 1985).

A suscetibilidade de *Candida* spp. ao fluconazol é definida pelo método M27 do NCCLS. Isolados com CIM $\leq$ 8 mg/L são considerados suscetíveis; com CIM de 16–32 mg/L, suscetíveis dependentes da dose (S-DD); e com CIM $\geq$ 64 mg/L, resistentes. Essa classificação é eficaz para candidíase mucosa em pacientes com HIV, mas tem menor

aplicabilidade em casos sistêmicos (Frechette et al., 1995; Cartledge et al., 1994; Blatchford, 1990; Graybill et al., 1998).

De modo geral, isolados iniciais de *Candida* spp. são suscetíveis ao fluconazol em pacientes não expostos previamente a azólicos, excetuando-se *C. krusei* e algumas cepas de outras espécies. Estudos de hemoculturas demonstram que mais de 95% das cepas de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* permanecem suscetíveis. Em contrapartida, a suscetibilidade de *C. glabrata* varia de 62,1% na América Latina a 80,9% na região Ásia-Pacífico (Alves, 2011).

O fluconazol possui perfil de tolerabilidade favorável nas doses recomendadas, mas efeitos adversos podem ocorrer, especialmente com doses acima de 400 mg/dia. Pacientes HIV positivos apresentam maior incidência de hepatotoxicidade associada ao fármaco (Govindarajan et al., 2024). Efeitos colaterais comuns incluem cefaléia, náusea, dor abdominal e elevação de transaminases hepáticas. Há também relatos de neurotoxicidade em doses superiores a 1.200 mg/dia, além de reações anafiláticas e síndrome de Stevens-Johnson, embora raras (Amichai; Grunwald, 1998; Pappas et al., 1995; Ünal Yüksesgönül; Ertuğrul; Karagöz, 2021).

O uso de terapias alternativas por mulheres com vaginite, especialmente aquelas com vaginite crônica, tem sido relatado há décadas. Apesar da escassez de dados sobre os mecanismos de ação dessas abordagens, alguns produtos apresentam atividade antifúngica comprovada (Nyirjesy et al., 1999; Nyirjesy et al., 2011).

Esses tratamentos geralmente são complementares à terapia antifúngica convencional. A investigação de alternativas terapêuticas pode revelar compostos ativos contra *Candida* spp. não-*albicans*, frequentemente resistentes aos tratamentos tradicionais, e até mesmo contra cepas resistentes de *C. albicans* (Ebrahimy et al., 2015).

A crescente prevalência de cepas resistentes de *Candida*, aliada às limitações farmacocinéticas e toxicológicas dos antifúngicos disponíveis, tem impulsionado a busca por novas estratégias terapêuticas para o tratamento da CVV. Essa busca se justifica não apenas pela resistência emergente, mas também pela necessidade de desenvolver compostos com melhor biodisponibilidade, menor toxicidade e eficácia aprimorada. Nesse cenário, diversas abordagens vêm sendo investigadas, incluindo terapias combinadas, derivados de compostos naturais, tecnologias de liberação controlada e moléculas com novos mecanismos de ação antifúngica.

3.4.2 Novos compostos

Diversos estudos têm explorado novas moléculas com potencial antifúngico para o tratamento da candidíase vulvovaginal, com o objetivo de superar os desafios impostos pela resistência de cepas de *Candida* e pelos efeitos adversos associados aos tratamentos convencionais. Entre os compostos em investigação, destaca-se o VT-1161 (oteseconazol), um inibidor da lanosterol 14 α -desmetilase com elevada seletividade por fungos, que demonstrou eficácia clínica associada a menor toxicidade hepática (Martens et al., 2021). Já o TOL-463, uma formulação combinando ácido bórico e EDTA, tem sido avaliado tanto para o tratamento da candidíase quanto da vaginose bacteriana, apresentando ação fungicida relevante (Marrazzo et al., 2019).

Além disso, compostos como nanopartículas contendo curcumina têm mostrado capacidade de otimizar a penetração e a liberação do princípio ativo no ambiente vaginal, aumentando sua eficácia terapêutica (MA et al., 2020). Complementarmente, estudos com extratos naturais, como os obtidos de *Mitracarpus frigidus* e do própolis, revelaram atividade antifúngica significativa, reforçando seu potencial como candidatos para formulações terapêuticas futuras (Capoci et al., 2015; Ebrahimi et al., 2015).

3.4.3 Plantas medicinais

O uso de plantas medicinais é uma prática histórico-cultural presente em diversas civilizações. Desde a pré-história, plantas eram utilizadas com fins terapêuticos, inicialmente associadas a rituais religiosos e, posteriormente, com base empírica (Rocha et al., 2021). Embora haja diversos antifúngicos disponíveis, ainda se busca o "ideal": com maior espectro de ação, menor toxicidade, custo reduzido e menor resistência (Nascimento et al., 2000; Pazhani, 2004). Nesse contexto, aumentaram nas últimas décadas os estudos sobre extratos de plantas medicinais, condimentares e aromáticas (Nascimento et al., 2000; Castro et al., 2000).

A legitimação científica dessas práticas é especialmente relevante para populações com acesso limitado a medicamentos, como no Brasil, por oferecer custo reduzido, disponibilidade, menor risco de efeitos colaterais e intoxicações (Furlan, 1998).

A família *Anacardiaceae*, conhecida por incluir diversas espécies de importância ecológica, medicinal e ornamental, compreende 81 gêneros e cerca de 800 espécies. Entre esses, destaca-se o gênero *Schinus*, que pertence a essa família e é particularmente expressivo no Brasil, com 29 espécies nativas da América do Sul. Dentre elas, sobressaem-se *Schinus molle* e *Schinus terebinthifolius* Raddi, amplamente utilizadas na arborização urbana e na

culinária, devido a suas propriedades organolépticas (Mitchell et al., 2022; Silva-Luz, 2020). Outra espécie notável é *Schinus weinmanniifolia* Mart. ex Engl., conhecida como "aroeira do campo", nativa do Brasil, Paraguai, Uruguai e Argentina, com flores de novembro a dezembro e frutos de novembro a janeiro. Seu uso é comum em arranjos ornamentais, graças ao porte arbustivo e às folhas perenes (Luz, 2011; Silva-Luz, 2020). A investigação sobre a atividade antimicrobiana de *Schinus weinmanniifolia* é ainda limitada, com apenas dois estudos encontrados na literatura. Hernandez et al. (2014) observaram que o óleo essencial obtido das folhas da planta durante a primavera demonstrou ação antifúngica frente aos microrganismos *Aspergillus brasiliensis* e *Candida albicans*, sugerindo um potencial terapêutico contra infecções fúngicas. Já Ferreira et al. (2023) avaliaram o extrato etanólico das folhas da espécie e constataram atividade antimicrobiana frente a diversas cepas bacterianas, como *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, além de ação contra fungos como *Candida albicans*.

3.5 Sinergia

Antes de abordar a sinergia em contextos mais amplos, é relevante destacar seu papel crescente na farmacologia e nas terapias antimicrobianas. A sinergia terapêutica tem sido cada vez mais explorada como uma estratégia para potencializar a ação de compostos já conhecidos, ampliando sua eficácia e contribuindo para a superação de mecanismos de resistência (Csermely; Agoston; Pongor, 2005).

A sinergia é um dos princípios que regem o mundo natural. Não é apenas um efeito onipresente na natureza, mas também é considerado a razão da crescente complexidade do processo evolutivo. Em termos gerais, a sinergia é definida como os efeitos combinados ou cumulativos produzidos pelas interações entre diversas forças, partículas, elementos, substâncias, partes ou indivíduos num determinado contexto.

A sinergia refere-se aos efeitos combinados produzidos pela interação entre diferentes agentes. No campo farmacológico, o uso combinado de medicamentos visa potencializar efeitos terapêuticos e superar a resistência adaptativa, especialmente em infecções, câncer e doenças crônicas (Csermely; Agoston; Pongor, 2005).

A abordagem multialvo substitui a monoterapia tradicional, focando não apenas na destruição do agente patogênico, mas também na modulação de mecanismos de proteção do organismo (Keith; Zimmermann, 2004).

Embora a descoberta de fármacos multialvo envolva longos processos de pesquisa, a combinação de substâncias com atividades complementares pode ampliar o arsenal terapêutico. Um exemplo citado por Borisy et al. (2003) mostrou que, das 435 combinações entre 30 medicamentos testados contra fungos, 22 apresentaram sinergismo, sendo algumas entre agentes previamente não antifúngicos.

A análise da sinergia pode ser qualitativa (ex: isoblograma clássico) ou quantitativa (ex: método de superfície de resposta). O modelo mais utilizado é o de aditividade de Loewe, representado graficamente por isobogramas. Curvas côncavas indicam sinergia, enquanto convexas sugerem antagonismo (Berenbaum, 1989; Greco et al., 1995). Essa abordagem oferece grande potencial para o desenvolvimento de novos tratamentos antifúngicos mais eficazes e com menor risco de resistência.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta de material vegetal e preparo do extrato aquoso das folhas de *Schinus weinmanniifolia* Mart. ex Engl.

O material botânico de *Schinus weinmanniifolia* Mart. ex Engl. (folhas) foi coletado no município de Dourados - Mato Grosso do Sul, próximo às fazendas Cural de Arame e Campo Beli (22°11'14" S, 54°55'14" W). Esta planta foi identificada pelo Dr. Augusto Giaretta de Oliveira da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD, Brasil). Uma exsicata desta espécie foi depositada no herbário DDMS-UFGD sob o número de registro 8856. A mesma está registrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o registro A9BE079.

As folhas de *Schinus weinmanniifolia* Mart. ex Engl. foram secas em estufa de circulação (72 h) a 40 °C. Após a secagem, o material vegetal foi triturado e extraído utilizando 10% (p/v) de água fervente sob agitação por 5 horas. Em seguida, foi realizado o processo de filtração e liofilização. O extrato aquoso das folhas de *Schinus weinmanniifolia* Mart. ex Engl. (EASW) foi coletado e armazenado a 4 °C.

Microrganismos

4.2 Microrganismos

Cepas padrão de leveduras foram obtidas da *American Type Culture Collection* (ATCC, Rockville, MD, EUA), incluindo *Candida albicans* (ATCC 90028), *Candida glabrata* (ATCC 2001). Isolados de *Candida albicans* provenientes de casos de candidíase vulvovaginal foram disponibilizados pela Coleções Microbiológicas da Universidade Estadual de Maringá (CMRP Taxonline).

4.3 Determinação da atividade antifúngica de EASW e Fluconazol

A concentração inibitória mínima (CIM) do extrato foi determinada utilizando o método de microdiluição em caldo, de acordo com a diretriz M27-A3 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008) para leveduras, com adaptações para produtos naturais. As leveduras foram suspensas em solução salina estéril (NaCl 0,9%), e as suspensões foram padronizadas utilizando um espectrofotômetro. O extrato foi submetido a diluições sucessivas (1:2) em microplacas de 96 poços com RPMI-1640 para leveduras. As

concentrações dos extratos variaram de 0,24 a 1000 µg/mL. Controles negativos de esterilidade do meio de cultura e dos extratos, assim como controles positivos, foram preparados para verificar a viabilidade dos microrganismos. O fluconazol (FLU) foi utilizado como antifúngico padrão. As temperaturas e os tempos de incubação foram de 35 °C por 24 h. A leitura foi realizada visualmente, e a CIM foi determinada como a menor concentração que reduziu 50% do crescimento fúngico tanto para o fluconazol quanto para o extrato, em comparação com o controle positivo (SANNOMIYA et al., 2022). Os ensaios foram realizados em duplicata em três momentos diferentes.

4.4 Atividade combinada de EASW com fluconazol

Para determinar o efeito combinatório de EASW com fluconazol, foi utilizada a técnica *Checkerboard* (de CASTRO et al., 2015) seguindo as diretrizes do CLSI (2008). As concentrações testadas de EASW variam de 0,0037 - 3,90 µg/mL e fluconazol de 0,0078 - 1 µg/mL, o que gerou diferentes combinações de concentrações entre EASW + fluconazol. As combinações foram testadas frente *C. albicans* (ATCC 90028), isolado vulvovaginal (CMRP3480) e *C. glabrata* (ATCC 2001). As microplacas foram montadas com 100 µL da combinação, 100 µL do inóculo padronizado ($2,5 \times 10^3$ cel./mL) e posteriormente, incubadas a 35 °C por 24 h. A leitura foi realizada visualmente, e a CIM foi determinada como a menor concentração que reduziu 50% do crescimento fúngico (SANNOMIYA et al., 2022). A avaliação da interação entre as combinações foi determinada pelo cálculo da Concentração Inibitória Fracionada (CIF) do extrato e do antifúngico, onde o índice CIF = (CIM do extrato em combinação com antifúngico/CIM do extrato isoladamente), o mesmo se aplicou para o fluconazol. Os resultados obtidos foram classificados segundo Fouquier e Guedj (2015). Após a visualização dos resultados foi realizada microscopia óptica das concentrações inibitórias isoladas e sinérgicas em um aumento de 100x.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Atividade antifúngica de EASW e Fluconazol frente a espécies de *Candida*

Os resultados da atividade antifúngica do extrato aquoso das folhas de *Schinus weinmanniifolia* Mart. ex Engl e do fluconazol frente a cepas de *Candida* spp. estão expressos na Tabela 1. Pode ser observado que EASW apresentou CIM de 1,95 µg/mL para *C. albicans*. Em relação a *Candida glabrata*, o EASW obteve melhor atividade em relação ao fluconazol, com CIM de 0,48 µg/mL, enquanto o antifúngico apresentou de CIM de 8 µg/mL. Com os resultados obtidos, *C. albicans* e *C. glabrata* foram selecionadas para o ensaio de sinergismo.

Tabela 1. Concentração inibitória mínima (µg/mL) do extrato aquoso das folhas (EASW) de *Schinus weinmanniifolia* Mart. ex Engl. Frente espécies de *Candida*.

Microrganismo	EASW	FLU
<i>Candida albicans</i>	1,95	0,125
<i>Candida glabrata</i>	0,48	8
<i>Candida krusei</i>	0,48	-
<i>Candida tropicalis</i>	0,97	0,125
<i>Candida parapsilosis</i>	0,97	1

Legenda: FLU, Fluconazol. Cepas de *Candida* spp. com CIM ≥ 8 µg/mL são consideradas resistentes ao fluconazol, exceto para *C. glabrata*, onde a CIM ≥ 64 µg/mL é caracterizada como resistente ao fluconazol, *Candida krusei* é intrinsecamente resistente ao fluconazol (-) (CLSI, 2017).

Fonte: Autora, 2025.

5.2 Determinação da atividade antifúngica de EASW e fluconazol frente a isolados de candidíase vulvovaginal

Os resultados da atividade antifúngica do extrato aquoso das folhas de *Schinus weinmanniifolia* Mart. ex Engl. e do fluconazol frente *Candida albicans* isoladas de candidíase vulvovaginal estão expressos na Tabela 2. Sendo observado que o CIM do isolado CMRP3480 foi diferente aos demais apresentando um resultado elevado, portanto sendo selecionado para ser utilizado nos demais testes.

Tabela 2. Concentração inibitória mínima (µg/mL) do extrato aquoso das folhas (EASW) de *Schinus weinmanniifolia* Mart. ex Engl. e Fluconazol contra *Candida albicans* (isolados de candidíase vulvovaginal).

Microrganismo	EASW	FLU
CMRP3475	1,95	0,125
CMRP3476	1,95	0,125
CMRP3477	1,95	0,125
CMRP3478	1,95	0,125
CMRP3479	1,95	0,125
CMRP3480	3,90	0,125

Legenda:FLU, Fluconazol. Cepas de *Candida* spp. com CIM ≥ 8 µg/mL são consideradas resistentes ao fluconazol. (CLSI, 2017).

Fonte: Autora, 2025.

Os resultados obtidos foram comparados aos critérios estabelecidos por Saraiva et al. 2011, que classificam extratos vegetais como altamente ativos quando apresentam valores de CIM entre 100 e 500 µg/mL. Nesta perspectiva, os valores de CIM determinados para o extrato aquoso de *Schinus weinmanniifolia* se destacam pela sua atividade antifúngica, com valores que variaram de 0,48-3,90 µg/mL para todas as espécies de *Candida* testadas incluindo os isolados vaginais.

5.3 Atividade combinada de EASW com fluconazol

Considerando a atividade antifúngica apresentada por EASW e Fluconazol, foi testado o potencial sinérgico do extrato em combinação com fluconazol frente *C. albicans* ATCC 90028, Isolado vulvovaginal CMRP3480 e *Candida glabrata* ATCC 2001.

A combinação de EASW com fluconazol apresentou efeito sinérgico para *C. albicans* ATCC 90028 (CIF = 0,48), assim como apresentou efeito sinérgico para Isolado vulvovaginal CMRP3480 (CIF = 0,73) e para *Candida glabrata* ATCC 2001 (CIF = 0,75) apresentado na Tabela 3.

Tabela 3. Atividade sinérgica do extrato aquoso das folhas de *Schinus weinmanniifolia* Mart. ex Engl. em combinação com fluconazol frente *C. albicans* ATCC 90028, Isolado vulvovaginal CMRP3480 e *Candida glabrata* ATCC 2001.

Combinação	Agente antifúngico	CIM (µg/mL)		CIF	Índice CIF	Interação
		Sozinho	combinado			
EASW+FLU (<i>C. albicans</i>)	EASW	1,95	0,01	0,008	0,48	Sinérgico
	Fluconazol	0,12	0,06	0,48		
EASW+FLU (Iso. vaginal)	EASW	3,90	0,97	0,25	0,73	Sinérgico
	Fluconazol	0,12	0,06	0,48		
EASW+FLU (<i>C. glabrata</i>)	EASW	0,48	0,12	0,25	0,75	Sinérgico
	Fluconazol	8,00	4,00	0,50		

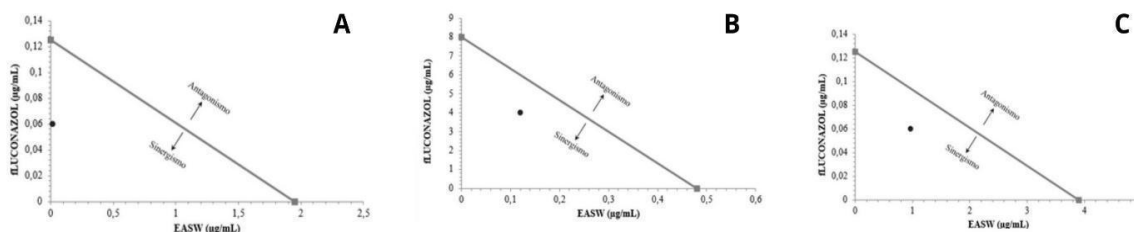
Legenda: CIM: concentração inibitória mínima; CIF: concentração inibitória fracionária; EASW: extrato aquoso das folhas de *Schinus weinmanniifolia* Mart. ex Engl; FLU: fluconazol.

Fonte: Autora, 2025.

Observou-se um efeito sinérgico promissor ao combinar o extrato aquoso de *Schinus weinmanniifolia* com fluconazol frente *Candida albicans* (ATCC e isolado vaginal) e *Candida glabrata*. Essa sinergia foi evidenciada pelos baixos índices de Concentração Inibitória Fracionada (CIF), que indicam que a combinação das substâncias potencializou a atividade antifúngica conforme previsto pelo princípio da sinergia. A combinação de fluconazol, um antifúngico comumente utilizado, com o extrato vegetal de *Schinus weinmanniifolia*, oferece uma abordagem inovadora para o tratamento de infecções fúngicas. É importante ressaltar que já existem evidências de isolados vaginais de *C. albicans* e *C. glabrata* com resistência ao fluconazol (Deravi et al., 2021), somado a esta problemática, existem efeitos adversos do uso prolongado de fluconazol (Eskut et al., 2020), desta forma a inserção de novas alternativas terapêuticas como extratos vegetais pode ser uma perspectiva promissora no tratamento de CVV.

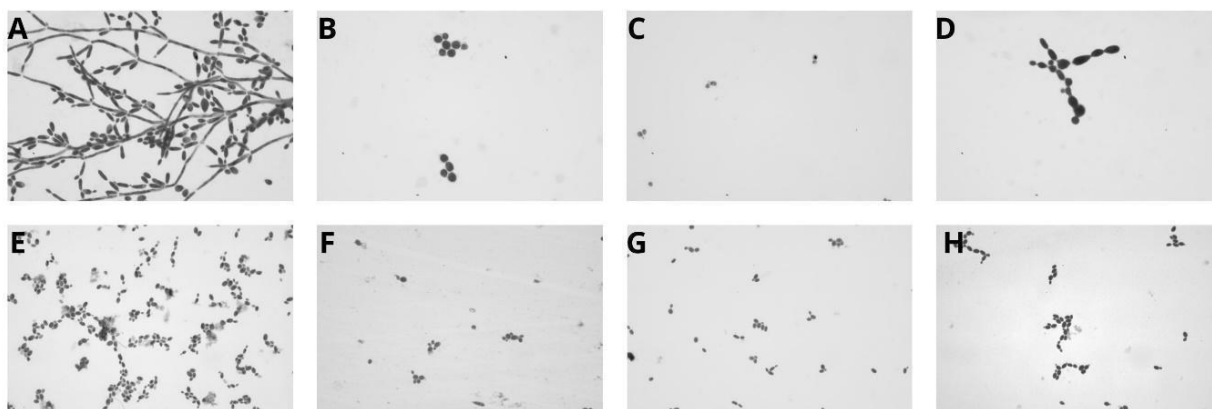
A Figura 2 ilustra a atividade sinérgica entre EASW e FLU, onde o ponto abaixo da linha indica sinergismo representando assim visualmente no isoblograma a atividade sinérgica avaliada. Na Figura 3 pode ser observado que as concentrações de CIM isoladas de EASW e FLU inibiram uma quantidade expressiva de células de *C. albicans* e *C. glabrata*, assim como a concentração sinérgica em comparação com o controle positivo, portanto assim é possível visualizar não só a inibição nas concentrações de CIM como nas concentrações sinérgicas.

Figura 2. Isobologramas da atividade sinérgica do extrato aquoso das folhas de *Schinus weinmanniifolia* Mart. ex Engl. (EASW) e fluconazol. A: Atividade sinérgica frente *Candida albicans* ATCC 90028. B: Atividade sinérgica frente ao isolado vaginal de *Candida albicans* CMRP3480. C: *Candida glabrata* ATCC 2001.



Fonte: Autora, 2025.

Figura 3. Microscopia óptica da morfologia e organização celular de *C. albicans* ATCC 90028 e *C. glabrata* ATCC 2001 após o tratamento com extrato aquoso das folhas de *Schinus weinmanniifolia* Mart. ex Engl. (EASW) e fluconazol.



Legenda: A: Controle positivo de *C. albicans*. B: CIM do fluconazol frente *C. albicans*. C: CIM do EASW frente *C. albicans*. D: Concentração sinérgica de EASW + FLU frente *C. albicans*. E: Controle positivo de *C. glabrata*. F: CIM do fluconazol frente *C. glabrata*. G: CIM do EASW frente *C. glabrata*. H: Concentração sinérgica de EASW + FLU frente *C. glabrata*.

Fonte: Autora, 2025.

6 CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos, destaca-se a atividade promissora do extrato aquoso das folhas de *Schinus weinmanniifolia* na inibição de *Candida spp.*, tanto em cepas de referência (ATCC) quanto em isolados clínicos. Os resultados demonstram que o extrato não apenas apresenta uma atividade antifúngica relevante, como também se alinha com dados presentes na literatura, consolidando seu potencial como uma alternativa terapêutica altamente ativa. Além disso, a sinergia observada entre o extrato e o fluconazol abre novas perspectivas para a combinação de tratamentos, o que poderia mitigar o problema crescente da resistência aos antifúngicos convencionais. Portanto, este trabalho reforça a importância de continuar a explorar compostos naturais, como o *Schinus weinmanniifolia*, para o desenvolvimento de novas terapias antifúngicas, com foco na ampliação das opções de tratamento disponíveis e na superação das limitações impostas pela resistência microbiana.

REFERÊNCIAS

- ACHKAR, J. M.; FRIES, B. C. Infecções por *Candida* do trato geniturinário. *Clin. Microbiol.*, v. 23, p. 253–273, 2010.
- ALFOUZAN, W.; DHAR, R. Resistance of *Candida* species to antifungal agents: prevalence and clinical implications. *J Mycol Med.*, 2017.
- ALVES, I. A. Avaliação da suscetibilidade de *Candida glabrata* resistentes ao fluconazol frente a combinações de antifúngicos. 2011.
- AMICHAÏ, B.; GRUNWALD, M. H. Reações adversas a medicamentos dos novos agentes antifúngicos orais. *Int J Dermatol.*, v. 37, n. 6, p. 410-5, 1998.
- BERENBAUM, M. C. What is synergy? *Pharmacological Reviews*, v. 41, n. 2, p. 93–141, 1989.
- BLATCHFORD, N. R. Tratamento da candidose oral com itraconazol: uma revisão. *J Am Acad Dermatol.*, v. 23, p. 565–7, 1990.
- BORISY, A. A. et al. Systematic discovery of multicomponent therapeutics. *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 100, n. 13, p. 7977–82, 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso. 8. ed. Brasília: Editora MS, 2010.
- CAPOCI, I. R. G. et al. Propolis is an efficient fungicide and inhibitor of biofilm production by vaginal *Candida albicans*. *Evid Based Complement Alternat Med.*, 2015.
- CARTLEDGE, J. D. et al. Solução de itraconazol ciclodextrina – tratamento eficaz para candidíase relacionada ao HIV. *J Antimicrob Chemother.*, v. 33, p. 1071–3, 1994.
- CHAFFIN, W. L. et al. Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*. *Microbiol Mol Biol Rev.*, v. 62, p. 130–80, 1998.
- CSERMELY, P.; AGOSTON, V.; PONGOR, S. The efficiency of multi-target drugs. *Trends Pharmacol Sci.*, v. 26, n. 4, p. 178–82, 2005.
- DEBRUYNE, D.; RYCKELYNCK, J. P. Clinical pharmacokinetics of fluconazole. *Clin Pharmacokinet.*, v. 24, p. 10–27, 1993.
- DERAVI, N.; FATHI, M.; TABATABAEIFAR, S. N. Azole Antifungal Resistance in *Candida albicans* and *Candida glabrata* Isolated from Vulvovaginal Candidiasis Patients. *Arch Clin Infect Dis.*, v. 16, n. 2, p. e106360, 2021.
- EBRAHIMY, M. et al. In vitro antifungal activity of *Mitracarpus frigidus* methanolic extract against *Candida albicans* isolates from vulvovaginal candidiasis. *Jundishapur Journal of Microbiology*, v. 8, n. 8, p. e26160, 2015.

EL-NASHAR, H. A. S. et al. The genus *Schinus* (Anacardiaceae): a review on phytochemicals and biological aspects. *Natural Product Research*, v. 36, n. 18, p. 4833-4851, 2021.

EŞKUT, N.; GEDIZLIOĞLU, M.; ÜNAL, O. Acute fluconazole toxicity: a case presenting with protean manifestations including systemic and neurologic symptoms. *Postgrad Med.*, v. 133, n. 2, p. 250-252, 2021.

FALAGAS, M.; ROUSSOS, N.; VARDAKAS, K. Frequência relativa de *Candida* spp albicans e de várias espécies não albicans entre isolados de candidemia de pacientes internados em várias partes do mundo: uma revisão sistemática. *Revista Internacional de Doenças Infecciosas: IJID: publicação oficial da Sociedade Internacional de Doenças Infecciosas*, v. 14, n. 11, p. e954-66, 2010.

FARHAN, M. et al. Tipos de leveduras que causam candidíase vulvovaginal em usuárias crônicas de corticosteroides. *Micologia Médica*, 2018.

FIDEL, P. L.; VÁZQUEZ, J. A.; SOBEL, J. D. *Candida glabrata*: Revisão da epidemiologia, patogênese e doença clínica em comparação com *C. albicans*. *Clin. Microbiol.*, v. 12, p. 80-96, 1999.

FRECHETTE, G. et al. Efeitos do itraconazol no tratamento da candidose oral em pacientes HIV. 35ª Inter. Conf. Antimicrob. Agents Chemother., 1995.

GIRISH, K.; KUMAR, C. P.; MENON, T. Carriage of *Candida* species in oral cavities of HIV infected patients in South India. *Mycoses*, v. 52, 2009.

GOVINDARAJAN A, BISTAS KG, INGOLD CJ, et al. Fluconazole. [Updated 2024 Feb 28]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/books/NBK537158/>

GRECO, W. R.; BRAVO, G.; PARSONS, J. C. The search for synergy. *Pharmacol Rev.*, v. 47, n. 2, p. 331–85, 1995.

GULATI, M.; NOBILE, C. J. *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. *Microbes Infect.*, 2016.

HAIJEH, R. et al. Incidência de infecções da corrente sanguínea devido a espécies de *Candida* e susceptibilidades in vitro de isolados coletados de 1998 a 2000 em um programa de vigilância ativa baseado na população. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 42, p. 1519-1527, 2004.

HEIMARK, L. et al. Antifungal azole activity by ergosterol biosynthesis monitoring. *J Mass Spectrom.*, v. 37, n. 3, p. 265–269, 2002.

HITCHCOCK, C. A. Interaction of azole antifungals with cytochrome P-450–dependent 14 α -sterol demethylase. *Biochem Soc Trans.*, v. 19, n. 3, p. 782–7, 1991.

JOSEPH-HORNE, T.; HOLLOMON, D. W. Molecular mechanisms of azole resistance in fungi. *FEMS Microbiol Lett.*, v. 149, n. 2, p. 141–9, 1997.

KEITH, C. T.; ZIMMERMANN, G. R. Multi-target therapeutics: when the whole is greater than the sum of the parts. *Drug Discov Today*, v. 9, n. 1, p. 29–36, 2004.

KIM, J.; SUDBERY, P. *Candida albicans*, um importante patógeno fúngico humano. *The Journal of Microbiology*, v. 49, p. 171-177, 2011.

KURTZMANN, C. P.; FELL, J. W. *The Yeasts: a taxonomic study*. 4. ed. Amsterdam: Elsevier, 1998.

LIM, S. G. et al. Absorption of fluconazole and itraconazole under low gastric pH. *Aliment Pharmacol Ther.*, v. 7, p. 317–21, 1993.

LOPES, J.; LIONAKIS, M. Patogênese e virulência de *Candida albicans*. *Virulence*, v. 13, p. 89-121, 2021.

LU, Y.; SU, C.; LIU, H. *Candida albicans* hyphal initiation and elongation. *Curr Trends Microbiol.*, v. 22, n. 12, p. 707–714, 2014.

LUZ, C. L. da S. *Anacardiaceae R. Br. na flora fanerogâmica do Estado de São Paulo*. 2011. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo.

MA, S. et al. Preparation and antibiofilm studies of curcumin loaded chitosan nanoparticles against polymicrobial biofilms of *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*. *Carbohydrate Polymers*, v. 241, p. 116254, 2020.

MARRAZZO, J. M. et al. Safety and efficacy of a novel vaginal anti-infective, TOL-463, in the treatment of bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis: a randomized, single-blind, phase 2, controlled trial. *Clinical Infectious Diseases*, v. 68, n. 5, p. 803–809, 2019.

MARTENS, M. G. et al. A phase 3, randomized, double-blind study to evaluate the efficacy and safety of oteseconazole (VT-1161) oral capsules versus fluconazole and placebo in the treatment of acute vulvovaginal candidiasis episodes in subjects with recurrent vulvovaginal candidiasis (ultraViolet). *Open Forum Infectious Diseases*, v. 8, Supl. 1, p. S459, 2021.

MAYER, F. L.; WILSON, D.; HUBE, B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*, v. 4, n. 2, p. 119–128, 2013.

MONTAGNA, M. T. et al. Candidemia em unidade de terapia intensiva: estudo GISIA-3. *Eur. Rev Pharmacol Sci.*, v. 18, p. 661–674, 2014.

NAUMOVA, E.; CASTELO-BRANCO, C. Vulvovaginal candidiasis. *Maturitas*, v. 114, p. 45–49, 2018.

NUCCI, M.; COLOMBO, A. L. Emergência de *Candida* resistente em pacientes neutropênicos. *Braz J Infect Dis.*, v. 6, n. 3, p. 131-136, 2002.

NYIRJESY, P. et al. Alternative treatments for chronic vaginitis. *Obstet Gynecol Surv.*, 1999; 2011.

- ODDS, F. C. et al. Candida concentrations and vaginal candidosis. *J Med Vet Mycol.*, v. 26, p. 277–83, 1988.
- PAPPAS, P. G. et al. Alopecia associada à terapia com fluconazol. *Ann Intern Med.*, v. 123, n. 5, p. 354–7, 1995.
- PFALLER, M. A. et al. Candida bloodstream infections: SENTRY Program 2008–2009. *Int J Antimicrob Agents*, v. 38, p. 65–69, 2011.
- RIERA, M. et al. Reguladores de biofilme em *Candida glabrata*. *Res Microbiol.*, v. 163, n. 4, p. 297–307, 2012.
- ROSA, R. T.; RUMEL, D. Candida na mulher: aspectos clínicos e laboratoriais. *Rev Bras Anal Clin.*, 2004.
- ROCHA, L. P. B. DA et al. Use of medicinal plants: History and relevance. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 10, p. e44101018282, 2021.
- SANNOMIYA, M. et al. Galloylquinic acid derivatives from *Byrsonima fagifolia* leaf extract and potential antifungal activity. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 297, p. 115534, 2022.
- SHERRY, L. et al. Biofilms formed by isolates from recurrent vulvovaginal candidiasis patients are heterogeneous and insensitive to fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother*, v. 61, p. AAC-01065, 2017.
- SILVA-LUZ, C. L. et al. Anacardiaceae in Flora e Funga do Brasil. *Jardim Botânico do Rio de Janeiro*, 2020.
- SOBEL, J. D. Candidal vulvovaginitis. *Clin Obstet Gynecol.*, v. 36, p. 153–62, 1993.
- UENO, K. et al. Lactate assimilation in *Candida glabrata*. *PLoS One*, v. 6, n. 9, p. e24759, 2011.
- ÜNAL YÜKSEKGÖNÜL, A.; ERTUĞRUL, İ.; KARAGÖZ, T. Prolongamento de QT e Torsades de Pointes com fluconazol. *Cardiol Young.*, v. 31, n. 12, p. 2035–2037, 2021.
- ZHU, W.; FONG, J. Y.; NORRIS, M. E. Phenotypic switching in *Candida albicans*. *FEMS Yeast Res.*, 2010.