



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE FARMÁCIA

LAÍS MAYARA RODRIGUES DA SILVA

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ENXAGUATÓRIO BUCAL FRENTE A *Candida albicans*

CAMPINA GRANDE

2017

LAÍS MAYARA RODRIGUES DA SILVA

laismaya_ra@hotmail.com

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ENXAGUATÓRIO BUCAL FRENTE A *Candida albicans*

Trabalho de conclusão de curso da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, em cumprimento as exigências para obtenção do título de bacharelado em Farmácia Generalista.

Orientadora: Profa. Dra. Rossana Miranda Cruz Camello Pessoa.

CAMPINA GRANDE

2017

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

S586a Silva, Lais Mayara Rodrigues da.
Atividade antifúngica do enxaguatório bucal frente a
Candida albicans [manuscrito] : / Lais Mayara Rodrigues da
Silva. - 2017.
34 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em
Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de
Ciências Biológicas e da Saúde, 2017.

"Orientação : Profa. Dra. Rossana Miranda Cruz Camello
Pessoa, Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."

1. Fitoterapia. 2. Candidose oral. 3. Atividade antifúngica.

21. ed. CDD 615.321

LAÍS MAYARA RODRIGUES DA SILVA

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ENXAGUATÓRIO BUCAL FRENTE A *Candida albicans*

Trabalho de conclusão de curso da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, em cumprimento as exigências para obtenção do título de bacharelado em Farmácia Generalista.

Aprovada em: 04/12/2017.

BANCA EXAMINADORA

Rossana Miranda Cruz Camello Pessoa

Prof^ª Dr^ª. Rossana Miranda Cruz Camello Pessoa (Orientadora)

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Edja Maria Melo de Brito Costa

Prof^ª. Dr^ª. Edja Maria Melo de Brito Costa

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Lindomar de Farias Belém

Prof. Dr^ª. Lindomar de Farias Belém

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pelo Seu infinito amor de me guiar por toda minha trajetória, por me manter firme e por te me concedido a graça de chegar ao final de mais essa etapa da minha vida. Nos momentos difíceis renovastes minha fé, me mantendo firme para cada recomeço, aprendizado e por me fazer crescer a cada dia.

Aos meus amados pais **Maria Iolanda R. Silva** e **Laurenildo P. da Silva** (*in memoriam*) por colocarem meu sonho de graduação como prioridade, pelo ser humano que me tornei, pelos ensinamentos sobre a vida, por serem meus maiores exemplos de determinação, dedicação e amor incondicional. E, é a eles que dedico minha eterna gratidão, pois palavras não seria suficiente para agradecer toda paciência, confiança e amor que expressam por mim. Aos meus irmãos **Lailson Rodrigues** e **Layanne Rodrigues**, pelo companheirismo e o laço fraterno inabalável. Somos um pelo outro, acima de nossas diferenças, unidos por este amor. Por entenderem minha ausência e “abusos” durante esta caminhada. As minhas amadas avós **Alice Oliveira** e **Maria Pereira** (*in memoriam*) por toda humildade, pela educação familiar, e por estarem mais próxima de mim através de suas preces e orações.

As minhas famílias de EJC, **Sementes de Cristo** e **Rosas da Imaculada**, por serem meus combustíveis na fé e por me deixarem mais próxima de Deus, grata por toda palavra de apoio, por cada expressão de amor e cuidado.

As minhas queridas amigas que a UEPB me deu **Gabriela Batista** e **Ranussa Fabriny**, por acreditarem em mim, mas do que eu mesma. Pela cumplicidade do dia a dia, pela amizade sincera, por dividir momentos de alegria, conquistas, estudos, frustrações, medos, viagens, dentre tantos outros. A **Thalita Azevedo**, que nesta reta final dividimos as bancadas de pesquisa, na certeza que esse longo convívio nos transformou em companheiras e amigas. Agradeço também a **Djavan, Amaro, Carlos** (Tchê), **Alisson, Hykara, Amanda** e **Hortência** pela amizade e acolhimento nesta caminhada, foram vocês que tive a oportunidade de conviver um pouco mais, dividir momentos de incerteza, dúvidas, caronas e alegrias. Valeu, Uepb!

As minhas amigas – irmãs **Aline Alvino, Eliane Souza, Jessika Andrade, Leinha Oliveira, Thaís Araujo** e **Zânia Bezerra** pela constante presença em minha vida, me apoiando, me entendendo pelas minhas ausências, porém sempre me descontraindo nos finais de semana/feriados. Vocês são mais do que especiais para mim.

A minha orientadora Prof. Dra. **Rossana Miranda**, que me acolheu desde o início da graduação, por ter acreditado e me incentivado na concretização de um sonho, por ter mostrado o caminho das obras científicas, e ao que com sua dedicação, paciência, incentivo, acessibilidade e competência conduz sua profissão.

A querida Prof. **Edja Maria**, que com toda receptividade me acolheu no laboratório de análises e diagnóstico, do departamento de odontologia, com sua dedicação e amor pela pesquisa, fez parte desta caminhada trazendo contribuição para o enriquecimento deste estudo.

A prof. **Lindomar de Farias**, por ter aceito o convite em participar desta banca e pelas contribuições feitas.

A **Priscila Guimarães**, mestrande de odontologia, que me acompanhou durante esta pesquisa, sacrificando suas horas de descanso, mas, com toda paciência, dedicação e atenção, me ajudou em toda parte experimental deste trabalho.

A todos que, embora não citados, colaboraram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

“Somos resultados de nossas escolhas e das decisões que tomamos. Em nossas mãos está a felicidade ou o sofrimento. É certo que não podemos voltar no tempo e apagar o que foi feito. Mas sempre podemos começar de novo e fazer diferente.”

Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	8
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	10
2.1	Plantas medicinais.....	10
2.2	Enxaguatório fitoterápico	11
2.2.1	<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Barbatimão)	12
2.2.2	Própolis.....	12
2.3	Candidose oral	13
2.4	Resistência antifúngica	14
3	METODOLOGIA.....	15
3.1	Caracterização e sequência metodológica do estudo	15
3.2	Local do estudo	15
3.3	Obtenção dos produtos.....	15
3.4	Manipulação do enxaguatório bucal	15
3.5	Caracterização do potencial antifúngico	16
3.6	Microrganismos	16
3.7	Preparação do inóculo.....	16
3.8	Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) pelo método da microdiluição em caldo	17
3.8.1	Leitura e interpretação da CIM.....	17
3.9	Determinação da concentração fungicida mínima (CFM).....	17
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
5	CONCLUSÃO.....	21
	ABSTRACT	22
	REFERÊNCIAS	23
	ANEXOS.....	30

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE UM ENXAGUATÓRIO BUCAL FRENTE A *Candida albicans*

Láís Mayara Rodrigues da Silva¹

Rossana Miranda Cruz Camello Pessoa²

RESUMO

Introdução: As infecções fúngicas nos últimos 30 anos vem sempre aumentando, tornando-se um relevante problema de saúde pública, e dentre elas está a candidose, que está relacionada com levedura do gênero *Candida*. Atualmente o estudo de substâncias de origem natural vem ganhando espaço com a perspectiva de obter melhor desempenho frente a diversos microrganismos e aumentar as possibilidades terapêuticas, em especial para a candidose oral. **Objetivo:** Avaliar, *in vitro*, a atividade antifúngica de um enxaguatório fitoterápico à base de *Stryphnodendrom adstringens* (barbatimão) e própolis produzido pela Farmácia Escola da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) e utilizado na Clínica Escola de Odontologia da UEPB. **Método:** A atividade antimicrobiana do enxaguatório foi analisada frente à *Candida albicans*, sendo duas cepas padrão (MYA2376 e ATCC 10231) e dois isolados clínicos de candidíase oral. Foi utilizada a técnica da microdiluição em caldo, para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM), após 48 horas de incubação à 37°C, utilizando meio de cultura Sabouraud dextrose (caldo e ágar), inóculo padronizado de 10³ células/mL e Nistatina como controle positivo. O enxaguatório foi diluído de forma seriada (v/v) no próprio meio de cultura, a partir da concentração original do enxaguatório (30mg/mL). **Resultados:** O enxaguatório apresentou atividade antifúngica frente à *Candida albicans*, com CIM=7,5mg/mL e CFM=15mg/mL. **Conclusão:** O enxaguatório apresentou atividade antifúngica frente à *Candida albicans*, reforçando seu potencial para sua aplicabilidade clínica, como enxaguatório bucal no controle da candidose oral e sugere-se a realização de estudos não-clínicos e clínicos, no sentido de constatar sua eficácia e segurança para o tratamento ou controle da candidose oral.

Palavras-chaves: Fitoterapia. Candidose oral. Atividade antifúngica

¹Estudante de graduação em Farmácia Generalista da Universidade Estadual da Paraíba – Campus I. (Email: laismayara@hotmail.com); ² Professora Doutora do Departamento de Farmácia, da Universidade Estadual da Paraíba – Campus I (Email: rossana.mpa@gmail.com)

1 INTRODUÇÃO

As infecções fúngicas nos últimos 30 anos vem sempre aumentando, tornando-se um relevante problema de saúde pública, e dentre elas está a candidíase oral (LASS- FLÖRL et al, 2010). A candidíase é caracterizada por ser uma doença oportunista, com características clínicas que variam da mucocutanêa evolução aguda ou crônica (SARDI et al, 2013). A prevalência da candidíase oral está relacionada a desequilíbrios homeostáticos do indivíduo, podendo evoluir para uma forma sistêmica da doença, dependendo das condições imunológicas do indivíduo (TIRABOSCHI et al, 2007; SINGH et al, 2014).

As infecções causadas por leveduras do gênero *Candida* são de extrema importância clínica, sendo a espécie de maior incidência, a *Candida albicans* (SILVA et al, 2012; KLINGSPORL et al, 2015). Outras espécies de *Candida*, como a *Candida tropicalis*, *Candida glabrata* e *Candida parapsilosis* estão associadas também a esta infecção. Aliada a incidência da candidose oral, está a resistência aos antifúngicos e a alta toxicidade sistêmica dos mesmos. O arsenal de fármacos antifúngicos disponíveis para o tratamento da candidose apresenta limitações, tornando-se uma preocupação no âmbito da saúde pública, despertando a necessidade clínica de novas alternativas terapêuticas para o seu tratamento (FERREIRA et al. 2015; BANDARA et al, 2017; LUKASZUK et al, 2017).

Diante da problemática, o estudo de substâncias de origem natural vem ganhando espaço com a perspectiva de obter melhor desempenho frente a diversos microrganismos e aumentar as possibilidades terapêuticas (KHAN et al, 2009). A utilização de plantas medicinais, devido às suas propriedades antissépticas, é verificada desde a antiguidade (ALMEIDA et al, 2011). A utilização destes produtos naturais, visa à produção de substâncias com atividade antimicrobiana capaz de interferir no desenvolvimento do biofilme bucal, se faz uma alternativa válida. Além disto, outras patologias bucais, como a candidose bucal, podem receber como terapêutica o emprego de produtos naturais (CAVALCANTI et al 2011).

A utilização dos fitoterápicos é de abrangência vasta e de fins variados, incluindo também sua aplicação em relação à saúde bucal (CORDEIRO et al, 2006). Foram criadas políticas públicas com objetivo de estimular o estudo e o uso clínico de fitoterápicos na odontologia, mas, apesar disto, este procedimento ainda ocorre de forma modesta pela classe.

Isto é devido principalmente à falta de apoio científico, quando se relata que a publicação de trabalhos relacionados a essa prática na odontologia ainda é escassa (CASTRO et al, 2014). Porém, a eficácia de plantas medicinais, como componentes de enxaguatórios bucais, tem sido investigada para o tratamento de doenças periodontais. Sugere-se que os ingredientes de origem vegetal podem ser empregados como apoio à terapia das doenças periodontais e como profilaxia de rotina (CORDEIRO et al, 2006).

Os enxaguatórios bucais à base de plantas medicinais tem se tornado um bom método de ajuda no combate a prevenção da candidose oral (CASTRO et al, 2014). É neste contexto, que os fitoterápicos utilizados neste estudo, como o *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) que, apresenta características de antisséptico, cicatrização de feridas, anti-inflamatório, antimicrobiano e antioxidante (ASPALLI et al 2014). A Própolis, substância produzida por abelhas tem atividades comprovadas como: antibacteriana, anestésica, anti-inflamatória e antiviral (HERNANDES et al, 2010). Apresenta outras propriedades farmacológicas como estimulante imunológico e antibacteriano. Sua ação antibacteriana abrange o espectro de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (SIMÕES et al, 2008).

O presente estudo tem como proposta a busca de uma nova alternativa para prevenção/profilaxia da candidose oral, através do enxaguatório bucal a base de tinturas de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) e Própolis, avaliando também suas atividades antifúngicas frente ao gênero *Candida*.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Plantas medicinais

Desde os primórdios, o homem busca a interação com o meio ambiente que o cerca a fim de exercer uma interação e prover suas necessidades para sobrevivência, bem-estar e cura dos seus males, com a utilização de plantas que apresentam finalidades terapêuticas (BADKE, 2008). Mesmo com todo avanço da indústria farmacêutica, as plantas que tem propriedades curativas, atualmente vem sendo cada vez mais estudadas e utilizadas para fins terapêuticos. As plantas medicinais são definidas como aquelas que são capazes de produzir princípios ativos que possam alterar o funcionamento de órgãos e sistemas, porém, que restaure o equilíbrio orgânico e homeostático nos casos de patologias (DE ARAUJO, 2015).

Nos dias de hoje, o uso de fitoterápicos como recurso medicinal vem aumentando cada vez mais e isto se deve ao alto custo de medicamentos sintéticos, a dificuldade de acesso a assistência à saúde e a propensão do uso de produtos naturais resultantes da sabedoria popular (BADKE et al, 2012). A fitoterapia limita-se ao uso interno ou externo das plantas, no manuseio de suas partes, na forma in natura ou em forma de medicamento com finalidade terapêutica. Devido a importância da fitoterapia dentro das possibilidades terapêuticas para a ciência médica, é necessária uma legislação que controle a qualidade e a segurança dos fitoterápicos, para que sua utilização e comercialização seja realizada de maneira mais segura, sob códigos civis (LOPES e BASTOS, 2011).

No Brasil, é a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o órgão responsável pela regulamentação de plantas medicinais e derivados, que tem como objetivo promover e proteger a saúde das pessoas, certificando-se da segurança sanitária e serviços. A ANVISA apresenta uma série de resoluções para garantir a eficácia dos medicamentos fitoterápicos. Dentre as resoluções, destaca-se a RDC Nº 67, DE 8 DE OUTUBRO DE 2007, que dispõe sobre as boas práticas de manipulação sejam elas de preparações magistrais ou oficinais para o uso humano em farmácias. Uma preparação magistral é aquela preparada na farmácia com manipulação para um paciente de forma individualizada, a partir de uma prescrição de um determinado profissional habilitado, e que forneça ao paciente detalhadamente suas principais características, dentre elas: composição, forma farmacêutica e informações ao seu modo de uso. Essa mesma resolução, atribui requisitos mínimos exigidos para o exercício das atividades de manipulação de preparações magistrais e oficinais das

farmácias, que vão desde instalações, equipamentos, até a manipulação, conservação, dispensação, entre outros, do produto manipulado, além da atenção farmacêutica aos usuários ou seus responsáveis (BRASIL, 2007).

A fitoterapia ganhou mais destaque no país com a criação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), que enfatiza a comunidade a necessidade de conhecer, apoiar e implementar práticas naturais de terapia. Houve então a criação do decreto nº 5.813 de 22 de junho de 2006, com a aprovação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, que o objetivo é: “garantir à população brasileira o acesso seguro e uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional” (DAMIAN ANTONIO et al, 2014).

2.2 Enxaguatório fitoterápico

A resistência a antibióticos pelas bactérias, os efeitos indesejáveis de alguns agentes antibacterianos utilizados na odontologia e das condições financeiras dominantes nos países em desenvolvimento, vem aumentando cada vez mais, resultando na necessidade de criar opções de prevenção e tratamento que sejam de qualidade, seguros e efetivos. Devido a essa problemática, os fitoterápicos na odontologia vêm sendo utilizados como agentes anti-inflamatórios, antibióticos, sedativos e na profilaxia de rotina, como os enxaguatórios bucais a base de plantas medicinais (PALOMBO, 2011).

Os enxaguatórios bucais à base de plantas medicinais tem se tornado um bom método de ajuda no combate e prevenção às doenças periodontais (ASPALLI et al, 2014). É um fitoterápico usado como alternativa a ser utilizada, em relação aos enxaguatórios de composição sintética, que já estão no mercado como os que apresentam em sua formulação a clorexidina. Os produtos naturais se caracterizam com menos efeitos colaterais (GUPTA et al, 2015). A RDC Nº 7, DE 10 DE FEVEREIRO DE 2015, dispõe sobre os requisitos técnicos para regularização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e dá outras providências, que estão elencadas no anexo II, na lista de tipos de produtos de grau 2, o enxaguatório bucal anti-séptico (BRASIL, 2015).

Para esta pesquisa, foi formulado o enxaguatório bucal a base de tinturas de Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) e Própolis.

2.2.1 *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão)

O *Stryphnodendron adstringens* Mart. é uma espécie pertencente à família Fabaceae que é distribuída em todas as regiões brasileiras (LIMA, 2010). Popularmente é conhecida como barbatimão, barba-de-timão, borãozinho-roxo, casca-da-virgindade, casca-da-mocidade, faveiro e enche-cangalha (GOULART, 2010).

O barbatimão possui vários compostos, representado pelos metabolitos secundários, como: alcaloides, terpenos, flavonoides, esteroides e taninos, sendo este último o seu constituinte predominante, que agrega o valor terapêutico à espécie. Esse metabólito está presente em toda a planta, porém se concentra principalmente na casca, com cerca de 30% em extrato aquoso (GOULART, 2010; MARQUES e SOUZA, 2013).

O principal uso do barbatimão pela população é como anti-inflamatório, antisséptico, antibacteriano, cicatrizante e adstringente (GOULART, 2010). Devido aos diversos estudos etnobotânicos e pela confirmação de sua eficácia terapêutica, esta espécie foi inserida na lista da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), em fevereiro de 2009 e recomendada, também, no formulário de fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira como cicatrizante na forma farmacêutica de creme (ANVISA, 2011).

Stryphnodendron adstringens foi considerada uma das espécies farmacologicamente mais interessantes, com grande abrangência de aplicação medicinal, tais como: cicatrização de feridas, diabetes, gastrite, doenças hepáticas, inflamações e dor em geral (SANTANA et al, 2016). Várias atividades farmacológicas foram comprovadas, como ação antimicrobiana, antisséptica, anti-inflamatória, antinociceptiva, antiulcerativa e cicatrizante (DE LIMA et al, 2017).

2.2.2 Própolis

A própolis é uma substância resinosa produzidas por abelhas a partir de folhas e outras partes de plantas, especialmente de espécies coníferas. O produto final é obtido quando as abelhas acrescentam enzimas salivares ao extrato bruto (TORRES et al, 2010). A própolis é derivada do grego *Pro* – “A favor ou em defesa de” e *polis* – “a cidade”, daí, “defensor da cidade / colméia” é conhecida assim devido suas características antibacterianas (JAIN et al, 2013). Outras propriedades das própolis são: anti-inflamatórias, bactericidas, anti-

protozoárias, antivirais, anestésicos locais, hepatoprotetoras, cicatrizantes, imuno-estimulantes e fungicidas.

Suas propriedades têm se mostrado tão eficazes, que estão sendo utilizadas em escala semelhante aos antibióticos convencionais, pois apresenta menos efeitos colaterais, combatem patógenos causadores de doenças bucais, sendo utilizada também com outras finalidades terapêuticas nos casos de halitose, estomatites, abscessos, sensibilidade dentinária cervical, pericoronarites, lesões endodônticas, xerostomia, doenças fúngicas da mucosa oral e periodontais (DODWAD e KUKREJA, 2016).

2.3 Candidose oral

A candidose é definida como infecção fúngica bucal, mais prevalente, sendo geralmente diagnosticada por meio da descamação do epitélio bucal, além de seu aspecto eritematoso com presença de placas brancas destacáveis sobre a mucosa; sensação de ardência e prurido (NEVILLE, 2017). E a maioria destas infecções, é responsável por elevadas taxas de morbidade e mortalidade em pacientes com comprometimento imunológico (BITAR et al, 2014). As micoses causadas pelo fungo leveduriforme do gênero *Candida*, são de grande importância e estão presentes nos casos de maior incidência (SILVA et al, 2012).

Atualmente o gênero *Candida* é constituído de aproximadamente 200 espécies diferentes de leveduras, que habitam diversas partes do corpo humano, como: cavidade bucal, orofaringe, secreções brônquicas e vagina (SCHULZE J e SONNENBORN U, 2009). A *Candida albicans* ocasiona a susceptibilidade da micose denominada candidose oral, essa infecção pode ser tanto aguda ou crônica, ocasionando lesões superficiais ou profundas. Entretanto, dependendo do estado imunológico do indivíduo hospedeiro, as infecções podem evoluir para alterações sistêmicas (DE ROSSI, 2011).

Por fazer parte da microbiota humana, espécies do gênero *Candida* são microrganismos comensais, tornando-se patogênicas quando ocorre alterações nos mecanismos de defesa do hospedeiro. Alguns fatores individuais contribuem para as infecções por *Candida*, dentre elas pode-se destacar: o rompimento das barreiras cutânea e mucosa, disfunção dos neutrófilos, defeito na imunidade mediada por células, desordem metabólica, exposição direta aos fungos, extremos de idade (recém-nascidos e idosos), desnutrição aguda, longo tratamento com antibióticos, quimioterapia, transplantes, resistência a antifúngicos, dentre outros (BARBEDO e SGARBI, 2010).

2.4 Resistência antifúngica

Ao se deparar com a atual realidade da resistência que os microrganismos vêm apresentando contra os antimicrobianos, observou-se a necessidade de novos estudos com produtos naturais que tenha esta finalidade terapêutica, e assim estimular a utilização de fitoterápicos já conhecidos e utilizados para outros fins, analisando-os amplamente e descobrindo novas finalidades para estes (MARCONDES e OLIVEIRA, 2015).

Os microrganismos são considerados resistentes, quando apresentam resistência a uma ou mais classes de antimicrobianos, segundo o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) de Atlanta, Estados Unidos (MENDES, 2011). Embora exista diversas classes terapêuticas disponíveis, a terapia para infecções do gênero *Candida*, tornou-se um tratamento difícil, pois as células eucarióticas das células fúngicas são similares as células hospedeiras (ENDO et al, 2009; KAUR et al, 2015). Os antifúngicos disponíveis para o tratamento de infecções fúngicas invasivas, são poucos. Por exemplo, os azóis geralmente são fungistáticos, em vez de fungicidas, e o seu uso prolongado, pode resultar em resistência (KHAN et al, 2010). Já os polienos se caracterizam por apresentarem baixos índices de resistência, porém são muito tóxicos. A formulações lipídicas de anfotericina B são menos tóxicas que a anfotericina B convencional, porém apresenta um custo mais elevado (CHANDRASEKAR, 2010).

O tratamento para candidíase não tem se mostrado abrangente em sua totalidade, devido ao surgimento de constantes barreiras ocasionadas, principalmente, pela redução de agentes antimicóticos que estão disponíveis para tratamento sistêmico, incluindo também a alta toxicidade e o crescente número de espécies resistentes aos antifúngicos (DA SILVA et al, 2014).

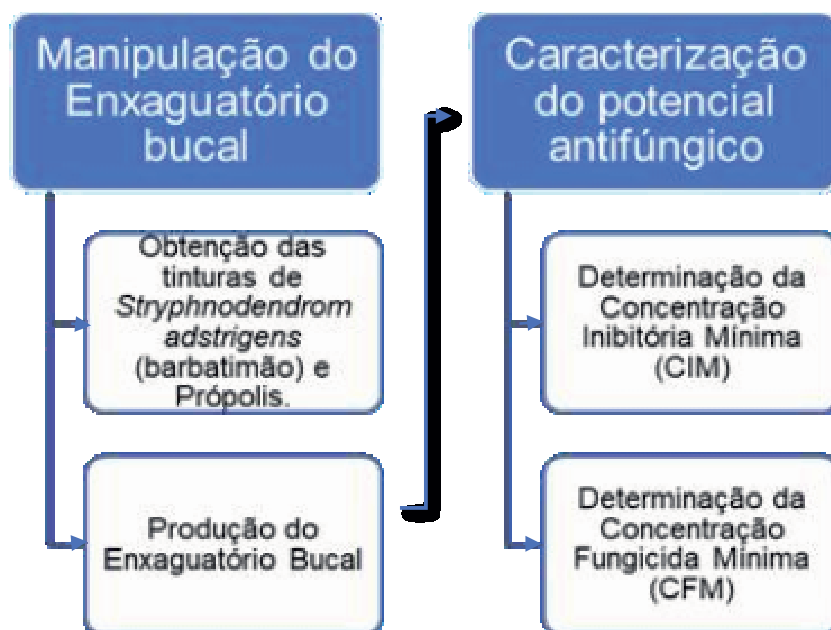
Da crescente preocupação com a resistência e toxicidade dos antifúngicos, surgiu a necessidade de novas pesquisas/estudos com atividade antifúngica de produtos vegetais. Nestas pesquisas são testadas compostos derivados de produtos naturais frente a diversas espécies fúngicas. De acordo com SIQUEIRA JUNIOR et al, 2016 as pesquisas estão voltadas para obtenção de princípios ativos presentes nos compostos vegetais para uma possível aplicação no tratamento de infecções causadas por vários microrganismos, entre eles, os fungos.

3 METODOLOGIA

3.1 Caracterização e sequência metodológica do estudo

Trata-se de um estudo quantitativo dividido em duas etapas, no qual a 1ª etapa se caracteriza pela manipulação do enxaguatório bucal e a 2ª etapa um estudo *in vitro*, para determinação da atividade anti-candida onde a sequência metodológica está representada no fluxograma abaixo (fig. 1):

Figura 1: Fluxograma com sequência metodológica



3.2 Local do estudo

O estudo foi realizado na Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), em Campina Grande, Paraíba, na Farmácia Escola, do Departamento de Farmácia, e no laboratório de Análises e Diagnóstico, do Departamento de Odontologia, da mesma instituição.

3.3 Obtenção dos produtos

Neste estudo, foram utilizadas duas tinturas. Uma tintura vegetal o *Stryphnodendrom adstrigens* (barbatimão) e a tintura de Própolis, adquiridos pela Farmácia Escola, UEPB. Os laudos destes produtos, se encontram no anexo A e B.

3.4 Manipulação do enxaguatório bucal

- **Materiais Utilizados:** As matérias-primas utilizadas para a manipulação do enxaguatório bucal estão descritos nas Ordens de Manipulação que se encontram no anexo C.
- **Métodos Utilizados:** Os métodos utilizados para a manipulação do enxaguatório bucal estão descritos nas Ordens de Manipulação que se encontram no anexo D, com base na RDC nº 67, de 08 de outubro de 2007 da ANVISA.

3.5 Caracterização do potencial antifúngico

Foi analisado o potencial antifúngico do enxaguatório bucal contendo tinturas de *Stryphnodendrom adstrigens* (barbatimão) e tintura de Própolis, produzido na farmácia escola, da UEPB, frente a espécie *Candida albicans*, por meio de ensaios *in vitro*, utilizando a técnica da microdiluição em caldo, de acordo com o protocolo M27-A3 estabelecido pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Fungicida Mínima (CFM).

3.6 Microrganismos

Foram utilizadas as seguintes linhagens de *Candida*: *Candida albicans* MYA2376 e *Candida albicans* ATCC 10231. Foram usadas também dois isolados frescos de *Candida albicans* de lesões de candidose oral, de pacientes da clínica-escola de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, sob a aprovação do comitê de ética desta instituição, em 15 de dezembro de 2015, com o número: 51779315.7.0000.5187.

3.7 Preparação do inóculo

As espécies de *Candida albicans* foram reativadas em ágar sabouraud dextrose (Merck®) e incubada por 24 horas a 37°C. Em seguida, as células foram suspensas em sabouraud dextrose caldo (Himedia®). A concentração da suspensão microbiana foi determinada na câmara de Neubauer (KASVI®) com obtenção de uma densidade celular de 5×10^3 UFC/mL. Após a preparação do inóculo, foram realizadas as diluições seriadas do enxaguatório, no meio de cultura sabouraud dextrose caldo (Himedia®) nos poços da microplaca.

3.8 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) pelo método da microdiluição em caldo

A determinação da CIM do enxaguatório bucal foi realizada através da técnica da microdiluição em caldo, utilizando microplacas contendo 96 poços (8 linhas A-H/ 12 colunas). O enxaguatório foi diluído da seguinte forma: Foram depositados 100 µL/poço do meio de cultura sabouraud dextrose caldo (Himedia®). Em seguida, acrescentou-se 100 µL do enxaguatório no poço inicial, numa concentração de 30 mg/mL. Procedeu-se a microdiluição, com a transferência de 100 µL do conteúdo do primeiro poço para o seguinte. Este procedimento foi repetido até o último poço, os 100 µL finais foram desprezados, obtendo-se as concentrações de 15 mg/mL, 7,5 mg/mL, 3,75 mg/mL, 1,87 mg/mL, 0,93 mg/mL, 0,46 mg/mL, 0,23 mg/mL e 0,11 mg/mL.

Posteriormente, 100 µL da suspensão de *Candida* de cultura de 24 horas (5×10^3 UFC/mL) foram adicionados à microplaca. As placas foram incubadas por 24 horas a 37°C (CLSI 2008).

A nistatina 0,5 mg/mL (500 µg/mL) (Sigma-Aldrich®) foi utilizada como controle positivo. Foram analisados também a esterilidade do meio de cultura e o controle de crescimento do microrganismo. Os ensaios foram realizados em duplicata.

3.8.1 Leitura e interpretação da CIM

Após o período de incubação foram adicionados 30 µL da solução reveladora resazurina, observando a mudança de cor de azul para rosa, que ocorre como indicativo de mudança do potencial hidrogeniônico (pH), ocasionada pelo crescimento microbiano (CLSI, 2008).

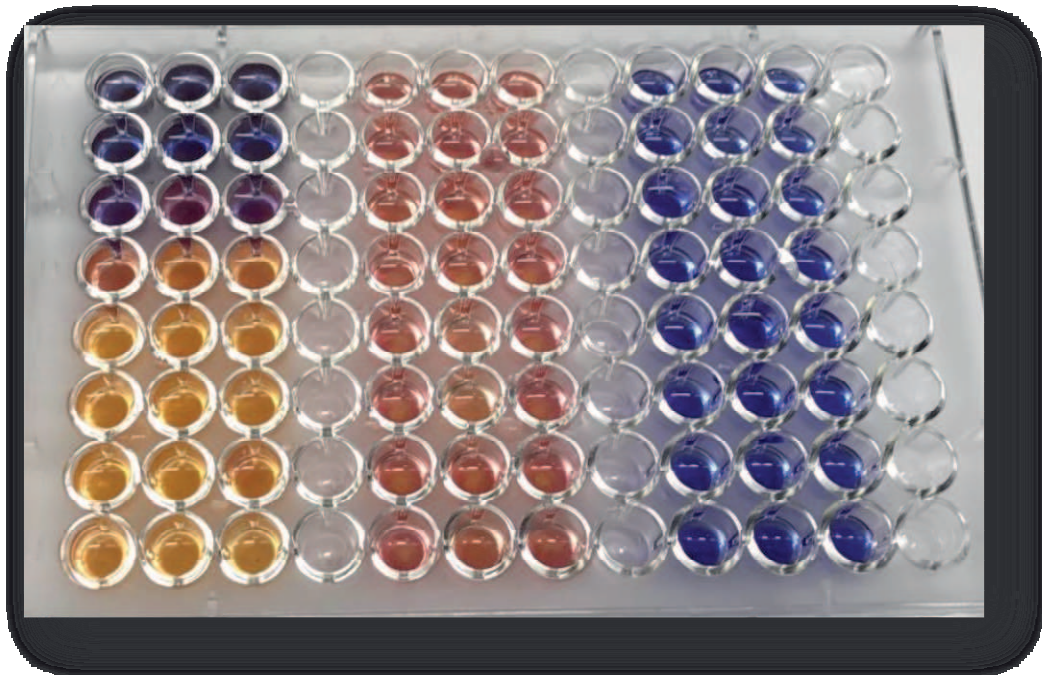
3.9 Determinação da concentração fungicida mínima (CFM)

A atividade fungicida foi realizada a partir do teste de microdiluição em caldo, onde alíquotas de 50 µL de cada poço, com concentrações igual e maiores que a CIM, foram subcultivadas em meio ágar sabouraud dextrose (Merck®) em placas de Petri e incubadas a 37°C por 48 horas. A CFM foi definida como a menor concentração que inibiu o crescimento visível do microrganismo (CLSI, 2008).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo o Formulário Nacional Fitoterápico (Farmacopeia Brasileira, 2010) as tinturas são usualmente obtidas utilizando uma parte da droga e dez partes do solvente de extração (1:10) ou uma parte da droga e cinco partes do solvente de extração (1:5). As tinturas são normalmente límpidas. Um pequeno sedimento pode se formar por deposição e é aceitável desde que não haja modificação da composição. São baseadas na ação solubilizante do álcool etílico ou da glicerina sobre o pó seco da droga vegetal, ao qual se pode agregar água em quantidade necessária para diminuir a concentração alcoólica. A graduação alcoólica da tintura varia de acordo com a solubilidade dos princípios ativos extraídos. Neste contexto, considerando que foram utilizadas estas diluições citadas, e todas as misturas com o produto em teste, foram na extração (1:5) equivalente à 20%.

Figura 2. Microplaca indicando a inibição do crescimento dos microrganismos testados na concentração de 7,5 mg/mL, controle positivo e controle negativo.



Fonte: Dados da pesquisa

Nota-se no controle positivo, os poços aonde se depositaram a nistatina, a permanência da cor azul, indicando que não houve mudança do pH, pois a nistatina inibiu o crescimento dos microrganismos. Ao contrário do controle negativo, onde não foi depositado agente antimicrobiano, ocorreu a mudança da coloração azul para os tons rosas, indicando a presença

de microrganismos pela mudança do pH do meio. Fato este elucidativo, para determinar a CIM do enxaguatório, como um referencial organoléptico através da mudança de coloração do meio.

As concentrações utilizadas do enxaguatório fitoterápico manipulado à base de 10% tintura de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) e 5% tintura de Própolis, apresentou atividade frente as espécies de *C.albicans*, descritas nos quadro 1, a seguir:

Quadro 1. Distribuição dos valores das concentrações inibitória mínima (CIM) e fungicida ínima (CFM) do enxaguatório fitoterápico, frente a *Candida albicans*.

MICROORGANISMOS	Concentrações		NISTATINA CIM (µg/mL)
	CIM µg/mL	CFM µg/mL	
<i>C. albicans</i> – MYA 2876	7500	15000	-
<i>C. albicans</i> – ATCC 10231	7500	15000	-
<i>C. albicans</i> – Cepa clínica 01	7500	15000	-
<i>C. albicans</i> – Cepa clínica 02	7500	15000	0,9765

Fonte: Dados da pesquisa

A atividade do *Stryphnodendron adstringens* está relacionado por possui constituintes químico como: alcalóides, flavonóides, terpenos, estilbenos, esteróides, inibidores de proteases (como a tripsina) e taninos (VASCONCELOS et al, 2004). Os Taninos são os componentes majoritários do barbatimão, sendo estes compostos associados aos efeitos antimicrobianos (DOS ANJOS et al, 2002). A avaliação da atividade antimicrobiana do extrato glicólico das cascas do barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) comprova a tendência atual de desenvolver e testar medicamentos produzidos a partir de plantas naturais, principalmente para controle de microrganismo (PASSARETTI et al 2016).

Um estudo avaliou a suscetibilidade *in vitro* de bactérias e fungos patogênicos da cavidade oral à extratos aquosos e etanólicos de barbatimão. E, concluindo que o uso do barbatimão é tecnicamente viável a reduzir a susceptibilidade de microrganismos orais e sugere a potencialização de extratos de barbatimão para o tratamento de doenças infecciosas da cavidade oral (GOMES, 2009).

Orlando (2005) observou atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato hidroalcoólico bruto da casca do barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) para *Candida albicans*, *Candida*

krusei, *Enterococcus faecalis*, *Kocuria rhizophila*, *Escherichia coli*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*. Obtendo resultados positivos frente a *Candida albicans*, dentre outros microrganismos. Este fato corrobora os achados encontrados nesta avaliação, embora se trate de uma forma farmacêutica, no entanto, composta por barbatimão e própolis.

A tintura de própolis por também fazer parte da formulação do enxaguatório, contribui para atividade antifúngica do composto teste, pois a própolis, em alguns estudos já realizados apresentou atividade biológica, podendo ser responsável por esta atividade, principalmente, e não apenas, os compostos fenólicos e os flavonoides. Também os ácidos cafeico, ácido benzóico, ácido cinâmico, que provavelmente atuam na membrana microbiana ou no local da parede celular, ocasionando danos funcionais e estruturais (GONDIM et al, 2011; HEIMBACH et al, 2016).

Dantas de Almeida et al, 2012 Constatou-se que a tintura de própolis frente à *C. albicans* não apresentou eficácia, não corroborando com estudo realizado por Dias e outros (2009). O resultado controverso frente às leveduras de mesma espécie pode ser explicado pela presença de fatores de virulência distintos, já que não apresentam a mesma especificação. outra hipótese seria a diferença fenotípica entre as espécies, de forma que a resposta frente ao uso de produtos à base própolis pode ser distinta, conforme observado no presente ensaio (DANTAS DE ALMEIDA et al, 2012).

Segundo Uzel (2005) a atividade antimicrobiana, são atribuídas principalmente à flavonona pinocembrina, ao flavonol galagina e ao éster feniletil do ácido caféico, com um mecanismo de ação baseado provavelmente na inibição do RNA-polimerase bacteriano.

Estudos comprovam atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato alcóolico de própolis, produzido em diferentes regiões, frente a diferentes microrganismos, tais como: *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus sp.* (JUNIOR et al, 2006).

Nos resultados obtidos, observou-se que houve inibição do crescimento de todos os microrganismos testados a partir da concentração de 7,5 mg/mL, podendo-se afirmar que no enxaguatório formulado também vai haver inibição do microrganismo, já que a concentração inicial é superior, vista que ainda não foi diluída. Já para os resultados da CFM o enxaguatório mostrou que é capaz de “matar” o microrganismo a partir da concentração de 15

mg/mL. Este estudo possibilita afirmar que o enxaguatório fitoterápico testado, apresenta efeitos fungistáticos e fungicidas *in vitro*, frente a *Candida albicans*.

O enxaguatório tem potencial para o controle do crescimento de *C. albicans*, e na perspectiva de indica-lo como um enxaguatório bucal, sugere-se a ampliação das análise antimicrobianas, no sentido de verificar sua atividade sobre espécies de bactérias e em biofilme formado com multiespécies da cavidade oral.

5 CONCLUSÃO

Este estudo mostrou a eficácia da atividade antifúngica, do enxaguatório fitoterápico a base de tinturas *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) e Própolis frente a espécies de *Candida albicans*, para o controle da candidose oral, sugere-se que ele pode ser utilizado como um recurso terapêutico e preventivo no controle de doenças periodontais. Os resultados encontrados neste trabalho reforçaram a importância de pesquisas com plantas medicinais com indicações terapêuticas na clínica odontológica e em outras modalidades clínicas. Vale salientar que as limitações dos testes *in vitro* merecem ser referenciadas *in vivo*, pois estes resultados podem não corresponder aos reais comportamentos *in vivo*, uma vez que não estão expostas as mesmas condições da cavidade oral. Sugere-se a realização de outros testes microbiológicos e ensaios clínicos para reforçar a viabilidade do seu uso.

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF A MOUTHWASH FRONT *Candida albicans*

Láís Mayara Rodrigues da Silva¹

Rossana Miranda Cruz Camelo Pessoa²

ABSTRACT

Introduction: Fungal infections in the last 30 years have been increasing, becoming a relevant public health problem, among them is *Candida*, which is related to *Candida* yeast. Nowadays the study of substances of natural origin is gaining space with the perspective of obtaining better performance against different microorganisms and increase the therapeutic possibilities, especially for oral candidosis. **Objective:** To evaluate, in vitro, the antifungal activity of a phytotherapeutic spray based on *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) and propolis produced by the School Pharmacy of the State University of Paraíba (UEPB) and used in the Clinical School of Dentistry of the UEPB. **Method:** The antimicrobial activity of the mouthwash was analyzed against *Candida albicans*, with two standard strains (MYA 2376 and ATCC 10231) and two clinical isolates of oral candidiasis. The broth microdilution technique was used to determine Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimal Fungicide Concentration (CFM), after 48 hours of incubation at 37 ° C, using Sabouraud dextrose culture medium (broth and agar), standardized inoculum of 10³ cells / mL and Nystatin as positive control. The rinse was serially diluted (v / v) in the culture medium itself, from the original concentration of the mouthwash (30mg / mL). **Results:** The mouthwash presented antifungal activity against *Candida albicans*, with MIC = 7.5mg / mL and CFM = 15mg / mL. **Conclusion:** The mouthwash presented an antifungal activity against *Candida albicans*, reinforcing its potential for its clinical applicability, as a mouthwash in the control of oral candidosis and it is suggested to perform non-clinical and clinical studies, in order to verify its efficacy and safety for the treatment or control of oral candidosis.

Keywords: Phytotherapy. Oral candidosis. Antifungal activity

¹Undergraduate student of Pharmacy at Paraíba State University. (laismaya_ra@hotmail.com)

²Adjunct Professor. Department of Pharmacy, Paraíba State University

REFERÊNCIAS

AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.

ALMEIDA, L.F., CAVALCANTI, Y.W., VIANA, W.P., LIMA, E.O. Screening da atividade antifúngica de Óleos Essenciais sobre *Candida Albicans*. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**. 2011;14(4):51-6.

ALVES, P. M. et al. Atividade antimicrobiana, antiaderente e antifúngica in vitro de plantas medicinais brasileiras sobre microrganismos do biofilme dental e cepas do gênero *Candida*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, p. 222-224, 2009.

ASPALLI, S. et al. Evaluation of antiplaque and antigingivitis effect of herbal mouthwash in treatment of plaque induced gingivitis: A randomized, clinical trial. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 18, n. 1, p. 48, 2014.

BADKE, M. R. **Conhecimento popular sobre o uso de plantas medicinais e o cuidado de enfermagem**. 2008. 96 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem). Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria-UFSM, 2008.

BANDARA, H. M. H. N.; MATSUBARA, V. H.; SAMARANAYAKE, L. P. Future therapies targeted towards eliminating *Candida* biofilms and associated infections. **Expert review of anti-infective therapy**, v. 15, n. 3, p. 299-318, 2017.

BARBEDO, L. S.; SGARBI, D. B.G. Candidíase. **J Bras Doenças Sex Transm**, v. 22, n. 1, p. 22-38, 2010.

BITAR, D. et al. Population-based analysis of invasive fungal infections, France, 2001–2010. **Emerging infectious diseases**, v. 20, n. 7, p. 1163, 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N°. 67, DE 8 DE OUTUBRO DE 2007. **Dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em farmácias**.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº. 7, DE 10 DE FEVEREIRO DE 2015. **Dispõe sobre os requisitos técnicos para regularização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e dá outras providências.**

CASTRO, R. D. et al. Brazilian scientific production on herbal medicines used in dentistry. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 618-627, 2014.

CAVALCANTI, Y.W., ALMEIDA, L.D.F., PADILHA, W.W.N. Anti-adherent activity of Rosmarinus officinalis essential oil on Candida albicans: an SEM analysis. **Revista Odonto Ciencias**. 2011;26(2):139-44.

CORDEIRO, Cynthia Helena Gontijo et al. Análise farmacognóstica e atividade antibacteriana de extratos vegetais empregados em formulação para a higiene bucal. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 3, p. 395-404, 2006.

CHANDRASEKAR, Pranatharthi. Management of invasive fungal infections: a role for polyenes. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 66, n. 3, p. 457-465, 2010.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts – CLSI M27-A3, Wayne, PA, USA, v.28, n.14, p.13, 2008.

DAMIAN ANTONIO, G.; DALCANALE TESSER, C.; MORETTI-PIRES, R. O. Fitoterapia na atenção primária à saúde. **Revista de Saúde Pública**, v. 48, n. 3, 2014.

DANTAS DE ALMEIDA, L. D. F. et al. Efecto antimicótico de las tinturas a partir de propóleo y pomegranate contra las especies de Candida. **Revista Cubana de Estomatología**, v. 49, n. 2, p. 99-106, 2012.

DA SILVA, C. R. et al. Synergistic effect of the flavonoid catechin, quercetin, or epigallocatechin gallate with fluconazole induces apoptosis in Candida tropicalis resistant to fluconazole. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 58, n. 3, p. 1468-1478, 2014.

DE ARAÚJO, E. C. A integralidade no cuidado pela enfermagem com a utilização da fitoterapia. **Revista de enfermagem UFPE on line-ISSN: 1981-8963**, v. 9, n. 9, 2015.

DE LIMA, T. C. D. et al. Breve revisão etnobotânica, fitoquímica e farmacologia de *Stryphnodendron adstringens* utilizada na Amazônia. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 10, n. 3, p. 329-338, 2017.

DE ROSSI, T. et al. Interações entre *Candida albicans* e hospedeiro. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 32, n. 1, p. 15-28, 2011.

DE SANTANA, B. F.; VOEKS, R. A.; FUNCH, L. S. Ethnomedicinal survey of a maroon community in Brazil's Atlantic tropical forest. **Journal of ethnopharmacology**, v. 181, p. 37-49, 2016.

DIAS, S. M. D. et al. Antifungal activity of commercial ethanolic and aqueous extracts of Brazilian propolis against *Candida* spp. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 3, p. 259-263, 2009.

DODWAD, V.; KUKREJA, B. Propolis mouthwash: A new beginning. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 15, n. 2, p. 121, 2016.

DOS ANJOS, C. R. A.Q.; DE MORAIS, S. A. L.; DO NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*) Characterization of aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*) wood tannins. **Revista Árvore**, v. 26, n. 4, p. 493-497, 2002.

ENDO, E. H. et al. Potent antifungal activity of extracts and pure compound isolated from pomegranate peels and synergism with fluconazole against *Candida albicans*. **Research in Microbiology**, v. 161, n. 7, p. 534-540, 2010.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. Formulário de fitoterápicos, 1ª Ed., ANVISA. 2011.

FERREIRA, G. L. S. et al. Does scientific evidence for the use of natural products in the treatment of oral candidiasis exist? A systematic review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, 2015.

GOMES, R. T. et al. Susceptibility of oral pathogenic microorganisms to aqueous and ethanolic extracts of *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão). **IJD. International Journal of Dentistry**, v. 8, n. 1, 2009.

GONDIM, B.L.C.; VIEIRA, T.I.; CUNHA, D.A.; SANTIAGO, B.M.; VALENÇA, A.M.G. Atividade antimicrobiana de produtos naturais frente a bactérias formadoras do biofilme dentário. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr** 2011;11(1):123-7.

GOULART, S.L. **Características anatômicas, químicas e densidade do barbatimão**. 2010. 131f. Tese (Doutorado) apresentada no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia da Madeira, Universidade Federal de Lavras, UFLA, 2010.

GUPTA, D. et al. Are herbal mouthwash efficacious over chlorhexidine on the dental plaque?. **Pharmacognosy research**, v. 7, n. 3, p. 277, 2015.

HEIMBACH, N. S. et al. Resíduo da extração de própolis como inibidor bacteriano in vitro. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 17, n. 1, 2016.

HERNANDES, L. et al. Wound-healing evaluation of ointment from *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) in rat skin. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 3, p. 431-436, 2010.

JAIN, S. A. et al. Extraction of DNA from honey and its amplification by PCR for botanical identification. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 33, n. 4, p. 753-756, 2013.

JUNIOR, A.F.; LOPES, M.; COLOMBARI V.; MONTEIRO, A.V.; VIEIRA, E.P. Atividade antimicrobiana de própolis de *Apis mellifera* obtidas em três regiões do Brasil. **Ciênc rural** 2006;36(1):294-7

KAUR, H. et al. Antifungal activity of Phyto-extracts of *Piper longum*, *Aloe vera*, and *Withania somnifera* against human fungal opportunistic pathogen *Candida albicans*. **DU Journal of Undergraduate Research and Innovation**, v. 1, p. 107-115, 2015.

KHAN, R. et al. Antimicrobial activity of five herbal extracts against multi drug resistant (MDR) strains of bacteria and fungus of clinical origin. **Molecules**, v. 14, n. 2, p. 586-597, 2009.

KHAN, A. et al. *Ocimum sanctum* essential oil and its active principles exert their antifungal activity by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity. **Research in microbiology**, v. 161, n. 10, p. 816-823, 2010.

KLINGSPOR, L. et al. Invasive *Candida* infections in surgical patients in intensive care units: a prospective, multicentre survey initiated by the European Confederation of Medical Mycology (ECMM) (2006–2008). **Clinical Microbiology and Infection**, v. 21, n. 1, p. 87. e1-87. e10, 2015.

KUMAR, V. G. et al. Phospholipase C, proteinase and hemolytic activities of *Candida* spp. isolated from pulmonary tuberculosis patients. **Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology**, v. 19, n. 1, p. 3-10, 2009.

LASS- FLÖRL, C.; PERKHOFER, S.; MAYR, A. In vitro susceptibility testing in fungi: a global perspective on a variety of methods. **Mycoses**, v. 53, n. 1, p. 1-11, 2010.

LIMA, A.B. **Estrutura genética de populações de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (barbatimão)**. 2010. 68 f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. Botucatu. 2010.

LOPES, A. M. C.; BASTOS, R. A. A. A Fitoterapia na Rede Básica de Saúde: o Olhar da Enfermagem. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 14, n. 2, p. 21-28, 2011.

ŁUKASZUK, C.; KRAJEWSKA-KUŁAK, E.; KUŁAK, W. Retrospective observation of drug susceptibility of *Candida* strains in the years 1999, 2004, and 2015. **PeerJ**, v. 5, p. e3038, 2017.

MARCONDES, D.; OLIVEIRA, J. C. R. **ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO FLUIDO E TINTURA DE *Tabebuia heptaphylla* (IPÊ ROXO)**. 2015. 29 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia), Faculdade de Pindamonhagaba, Pindamonhagaba, 2015.

MARQUES, L. C.; SOUZA, C. M. Pesquisa e desenvolvimento de fitoterápicos: relatos de experiência em indústria farmacêutica nacional. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 7, n. 01, 2013.

MENDES, L. P. M. et al. Atividade antimicrobiana de extratos etanólicos de *Peperomia pellucida* e *Portulaca pilosa*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 1, p. 121-125, 2011.

MENEZES, T. O. A. et al. Avaliação in vitro da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de *Candida albicans*. **Rev. odontol. UNESP (Online)**, v. 38, n. 3, 2009.

NEVILLE, B. **Patologia oral e maxilofacial**. Elsevier Brasil, 2017.

ORLANDO, S.C. **Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico bruto da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville (Barbatimão)** [dissertação]. Franca (SP): Universidade de Franca; 2005.

PALOMBO, E. A. Traditional medicinal plant extracts and natural products with activity against oral bacteria: potential application in the prevention and treatment of oral diseases. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, 2011.

PASSARETTI, T. et al. Eficácia do uso do Barbatimão (*Stryfnodendron barbatiman*) no processo de cicatrização em lesões: uma revisão de literatura. **ABCS Health Sciences**, v. 41, n. 1, 2016.

ROSSATO BADKE, M. et al. Saberes e práticas populares de cuidado em saúde com o uso de plantas medicinais. **Texto & contexto enfermagem**, v. 21, n. 2, 2012.

SARDI, J. C. O. et al. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. **Journal of medical microbiology**, v. 62, n. 1, p. 10-24, 2013.

SCHULZE, J.; SONNENBORN, U. Yeasts in the gut: from commensals to infectious agents. **Deutsches Ärzteblatt International**, v. 106, n. 51-52, p. 837, 2009.

SILVA, S. et al. Biofilms of non-*Candida albicans* *Candida* species: quantification, structure and matrix composition. **Sabouraudia**, v. 47, n. 7, p. 681-689, 2009.

SILVA, S. et al. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. **FEMS microbiology reviews**, v. 36, n. 2, p. 288-305, 2012.

SIMÕES, C. C.; DE ARAÚJO, D. B.; DE ARAÚJO, R. P. C. **Estudo in vitro e ex vivo da ação de diferentes concentrações de extratos de própolis frente aos microrganismos presentes na saliva de humanos.** 2008.

SINGH, A. et al. Oral candidiasis: An overview. **Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP**, v. 18, n. Suppl 1, p. S81, 2014.

SIQUEIRA JÚNIOR, J. P. et al. **Avaliação das atividades antifúngica, antioxidante e citotóxica dos monoterpenos (r)-(+)-citronelal,(s)-(-)-citronelal, 7-hidroxicitronelal.** Tese (Doutorado). João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, 2016.

TIRABOSCHI, I. N. et al. Brote de candidemia por *Candida albicans* en neonatología. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 24, n. 4, p. 263-267, 2007.

TORRES, C. R. G. et al. Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na Odontologia. **Brazilian Dental Science**, v. 3, n. 2, 2010.

UZEL, A. et al. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. **Microbiological research**, v. 160, n. 2, p. 189-195, 2005.

VASCONCELOS, M. C. A. et al. Avaliação de atividades biológicas das sementes de *Stryphnodendron obovatum* Benth. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n. 1, p. 121-127, 2004.

ANEXOS

ANEXO A: LAUDO DA TINTURA DO BARBATIMÃO



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAIBA
 NFe normal de saída 164453 série 2 em 21/07/2018

Tintura de Barbatimão

Fabricação	Validade	Lote	Procedência
17/09/2015	17/09/2017	ALL 061890	NACIONAL
Categoria		Origem	
Insumo Farmacêutico		BRASIL	

Ensaio e Especificações	Resultado	Observações	Observações
1. Contagem Bacteriana Total Máximo de 10.000 UFC/mL.	Ausência de crescimento	Fabricante	Fabricante
2. Contagem de Bolores e leveduras Máximo de 1.000 UFC/mL.	Ausência de crescimento	Fabricante	Fabricante
ARMAZENAMENTO			
Mantenha o produto em local fresco e arejado, protegido de umidade e calor.	De acordo	Fabricante	Fabricante
ASPECTO			
Líquido de baixa viscosidade.	De acordo	Fabricante	Fabricante
COR			
Castanho avermelhado e Castanho escuro.	De acordo	Fabricante	Fabricante
DENSIDADE			
Entre 0,75g/mL e 1,05g/mL.	0,928g/mL	Fabricante	Fabricante
ODOR			
Característico.	De acordo	Fabricante	Fabricante
PH			
Entre 3 e 7.	4,9	Fabricante	Fabricante
SOLUBILIDADE			
Solúvel em bases alcoólicas.	De acordo	Fabricante	Fabricante
TEOR ALCOÓLICO			
Entre 40° e 60°.	53°	Fabricante	Fabricante

Fabricante: COSBITO
 Lote do Fabricante: 0333051715-19
 Informações Adicionais:

- Nome Botânico: Strychnodendron barbatimao;
- Parte Utilizada: Casca;
- Relação Matéria Prima Vegetal: Derivado Vegetal = 20%;
- Processo de Produção: Percolação / Maceração;
- Solvente de Extração: Alcool Etílico Água;
- Pode ocorrer turbidez e precipitação sem alterar as características do produto. Neste caso, homogeneizar o produto antes do uso;
- Poderá haver alterações de cor por se tratar de um produto natural.

Informações importantes:
 Manter em recipiente fechado.
 Manter em temperatura ambiente.

Certificado de Qualidade AII Chemistry Número ALL 061890-0 em 23/06/2018

Os itens analisados pelo laboratório de controle de qualidade AII Chemistry estão em conformidade com suas respectivas especificações. Os demais ensaios estão de acordo com o certificado de análise do fornecedor ou do fabricante.


 Cíntia Regina Maestre Paschoal
 CRF-SP: 33.229

página 1

ANEXO B: LAUDO DA TINTURA DE PRÓPOLIS

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
NFe de saída 98670 série 2 em 28/02/2014



Tintura de Própolis

Fabricação	Validade	Lote	Procedência
07/10/2013	07/10/2015	ALL 053245	NACIONAL
Categoria			Origem
Insumo Farmacêutico			BRASIL

Ensaio e Especificações	Resultado	Referência	Laboratório
ARMAZENAMENTO			
Mantenha o produto em local fresco e arejado, protegido de umidade e calor.	De acordo	Fabricante	Fabricante
ASPECTO			
Líquido de baixa viscosidade	De acordo	Fabricante	Fabricante
COR			
Castanho Amarelado a Castanho.	De acordo	Fabricante	Fabricante
DENSIDADE (20°C +/- 4°C)			
Entre 0,75g/mL e 1,05g/mL.	0,896g/mL	Fabricante	Fabricante
ODOR			
Característico	De acordo	Fabricante	Fabricante
pH (20 °C +/- 4 °C)			
Entre 3 e 7.	5,4	Fabricante	Fabricante
SOLUBILIDADE			
Solúvel em bases alcoólicas.	De acordo	Fabricante	Fabricante
TEOR DE ÁLCOOL			
Entre 40° e 80°.	68°	Fabricante	Fabricante

Lote do Fabricante: 03128100713-2
Informações adicionais:

- Parte Utilizada: Resina;
 - Relação Matéria Prima Vegetal: Derivado Vegetal = 20%;
 - Processo de Produção: Maceração;
 - Solvente de Extração: Alcool de Cereais/Água;
 - Pode ocorrer turbidez e precipitação sem alterar as características do produto. Neste caso, homogeneizar o produto antes do uso.
 - Poderá haver alterações de cor por se tratar de um produto natural.
- Informações importantes:
Manter em recipiente fechado.
Manter em temperatura ambiente.


Certificado de Qualidade All Chemistry Número ALL 053245-0 em 09/01/2014


Os itens analisados pelo laboratório de controle de qualidade All Chemistry estão em conformidade com suas respectivas especificações. Os demais ensaios estão de acordo com o certificado de análise do fornecedor ou do fabricante.

Cintia Regina Maestre Paschoal
CRF-SP: 33.229

página 1


ANEXO C: MATERIAIS UTILIZADOS NA MANIPULAÇÃO DO ENXAGUATÓRIO FITOTERÁPICO.



UEPB
 Universidade
 Estadual da Paraíba
Universidade Estadual da Paraíba - CNPJ: 12.671.814/0001-37
 Rua Baraunas, 351 - Bairro Universitário - Campina Grande-PB, CEP 58429-500
 Telefone: (83) 3315-3300 RAMAL: 3528
 Farmacêutica: Naiana Gondim P.B. Lima CRF 2995/PB


Farmácia Escola

ORDEM DE MANIPULAÇÃO

PRODUTO: Solução Conservante de Parabenos (p/p) LOTE: QUANTIDADE: _____ mL Data: ____/____/____ Laboratório: Bases galênicas	TÉCNICA Pesar cada substância em separado. Em um béquer aquecer o propilenoglicol (até 60°C, verificar com um termômetro) e adicionar os parabenos aos poucos, sob agitação (bastão de vidro), até completa solubilização. OBS: Em recipientes adequados, de plástico opaco ou vidro âmbar, ao abrigo da luz e à temperatura ambiente.			
ATIVOS.	QUANT.	FORNECEDOR	LOTE	CONTROLE DE QUALIDADE
	PESADA			Aspecto _____
Propilenoglicol	91 g	Ely Martins	Z01264U	Cor _____
Metilparabeno	6 g	All Chemistry	ALL.053954	pH _____
Propilparabeno	3 g	All Chemistry	ALL.50918	
Manipulado por:				Data: _____
Farmacêutico conferente:				

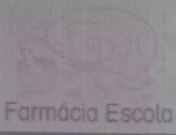


UEPB
 Universidade
 Estadual da Paraíba
Universidade Estadual da Paraíba - CNPJ: 12.671.814/0001-37
 Rua Baraunas, 351 - Bairro Universitário - Campina Grande-PB, CEP 58429-500
 Telefone: (83) 3315-3300 RAMAL: 3528
 Farmacêutica: Naiana Gondim P.B. Lima CRF 2995/PB


Farmácia Escola

ORDEM DE MANIPULAÇÃO

PRODUTO: Solução glicerinada LOTE: QUANTIDADE: Data: ____/____/____	TÉCNICA Em provetas separadas medir a glicerina e a água destilada. Misturar com bastão de vidro.				
ATIVOS	CONCENT.	QUANT.	FORNECEDOR	LOTE	CONTROLE DE QUALIDADE
		PESADA			Aspecto _____
Glicerina	20%		Mapric	AUTO193174	Cor _____
Água destilada	80%		Farmácia Escola		Odor _____
Manipulado por:					Data: _____
Farmacêutico conferente:					

ANEXO D: MÉTODO UTILIZADO PARA MANIPULAÇÃO DO ENXAGUATÓRIO FITOTERÁPICO.

UEPB
Universidade
Estadual da Paraíba

Universidade Estadual da Paraíba - CNPJ: 12.871.814/0001-07
Rua Senador Celso Ramos, 215 - Bairro Universitário - Caixa Postal 505 - 51201-900
Tel/Fax: (81) 3315-2200 - FAX: (81) 3315-2223
Paranápolis, Naama Garden P.B. Lins CRF 2095/PB

ORDEM DE MANIPULAÇÃO					
PRODUTO: Enxaguatório bucal		TÉCNICA			
Cliente: _____		Em provetas separadas medir a solução fitoterápica, solução conservante de parabenos e tintura de própolis. Acrescentar q.s.p solução glicerinada			
QUANTIDADE:		Nº de ordem livro de receituário (NOLR): _____			
Data: ____/____/2016		ORSI: Solução glicerinada (Água destilada 80 %, Glicerina 20 %)			
Laboratório: Bases galênicas					
ATIVOS	CONCENT	QUANT PESADA	FORNECEDO R	LOTE	CONTROLE DE QUALIDADE
Tintura de barbatimao <i>Stryphnodendron barbatimao</i>	10 %		All Chemistry	ALL06067 0	Aspecto _____ Cor _____ Odor _____ pH _____
Solução conservante de Parabenos	2 %		Farmácia Escola		
Tintura de Própolis	5 %		All Chemistry	ALL06078 1	
Solução glicerinada	q.s.p 100 %		Farmácia Escola		
Manipulado por:				Data:	
Farmacêutico conferente:				Data:	