



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE – UFCG  
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE – UAS  
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE – CES  
BACHARELADO EM FARMÁCIA

MATHEUS MERSON DE ARAÚJO SILVA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO ETANÓLICO DE  
PRÓPOLIS VERMELHA CONTRA CEPAS DE *Candida* spp.**

CUITÉ – PB

2019

MATHEUS MERSON DE ARAÚJO SILVA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO ETANÓLICO DE  
PRÓPOLIS VERMELHA CONTRA CEPAS DE *Candida spp.***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Egberto Santos Carmo

CUITÉ – PB

2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE  
Responsabilidade Rosana Amâncio Pereira – CRB 15 – 791

S586a Silva, Matheus Merson de Araújo.

Avaliação da atividade antifúngica do extrato etanólico de própolis vermelha contra cepas de *Candida* spp. / Matheus Merson de Araújo Silva. – Cuité: CES, 2019.

45 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2019.

Orientação: Dr. Egberto Santos Carmo.

1. *Candida*. 2. Própolis vermelha. 3. Atividade antifúngica. I.  
Título.

Biblioteca do CES - UFCG

CDU 615.281.9

MATHEUS MERSON DE ARAÚJO SILVA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO ETANÓLICO DE  
PRÓPOLIS VERMELHA CONTRA CEPAS DE *Candida* spp.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado a coordenação do Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito obrigatório para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

**APROVADO EM 08/11/2019**

**BANCA EXAMINADORA**



---

**Prof. Dr. Egberto Santos Carmo**

(Orientador)



---

**Prof. Dra. Júlia Beatriz Pereira de Souza**

(Examinador)



---

**Prof. Ms. Ana Laura de Cabral Sobreira**

(Examinador)

---

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, autor do meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia, a minha família, meu pai Marcelo Merson da Silva, minha mãe Maria das Vitórias de Araújo Silva que são minha base e meu ponto de apoio e sem eles eu não estaria aqui, e ao meu irmão Miguel Merson de Araújo Silva.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, fonte de toda sabedoria e amor eterno, inteligência suprema por ter me guiado e me proporcionado este momento em minha vida;

A minha família, meus pais, Marcelo Merson e Maria das Vitórias, por serem minha base, minha fonte de inspiração para vida e por sempre terem me apoiado em minhas decisões;

Ao meu irmão Miguel Merson e sua esposa Monique Machado por terem me proporcionado uma das fontes de minha alegria nos últimos tempos, meu sobrinho Thomas Merson e minha sobrinha que vai nascer Isabela Merson;

Aos meus avós, Dede Liberato e Tezinha, Zé biléu e Maria Gomes, que já se foram, mas eu sei que estão torcendo por mim lá do céu;

A minha prima e amiga de todas as horas, Maria Eduarda da Silva Leite, por sempre está comigo nas horas difíceis;

A minha amiga Giovanna Souza, por ter compartilhado comigo ótimos momentos de alegria;

A meu amigo Kinho Macêdo, por ter sido sempre um grande irmão e pôr está sempre nas horas de angústias e desespero me dando os seus conselhos;

A meu orientador Egberto Santos Carmo, por sua dedicação, tranquilidade e paciência em me ajudar a realizar este trabalho;

A minha companheira de bancada, Luana Sayuri Okamura, por ter compartilhado comigo todas as etapas de construção desta pesquisa e por ter me ajudado muito no decorrer desses cinco anos de faculdade, com sua paciência, seus conselhos, seu amor e seu companheirismo nas horas difíceis;

A toda minha turma, meus amigos que adquiri nesses últimos cinco, sou grato a todos vocês por terem feito parte da minha história Sayuri Okamura, Sabrina Alencar, Camila Soares, Maria Medeiros, Firmino Neto, Fernando Emanuel, César Augusto, Marcus Vinicius, Thaynara Jorge, Bruna Maia, Mirla Dantas, Yanne Celeste, Ítalo Batista, Ricardo Igor, Genilson Amorim, Anderson Vasconcelos, Alison Lucas, Zeferino André, Fabia Rafaela, Renata Araújo, Anny Caroline, Iara Luíza, Carlos Alencar, Arielly Batista, Aniele Medeiros, Wedja Marcelino,

Leticia Mirely, e dizer que cada um de vocês tem um lugar especial no meu coração, grato pela turma mais unida da história da UFCG-CES;

Ao grupo Diferentões composto por Firmino Neto, Fernando Emanuel, Ricardo Igor, Ítalo Batista, Genilson Amorim, Zeferino André, Carlos Alencar, Anderson Vasconcelos, por todos os nossos momentos de resenha e brincadeiras e por nossa amizade verdadeira;

A casa do estágio 2 e 3, onde residem Fernando Emanuel, Thaynara Jorge, César Augusto, Marcus Vinicius, por terem me proporcionado momentos de alegria e companheirismo, momentos de raiva também, mas que passavam rapidamente, pois nossa amizade é verdadeira e agradecer por serem essas pessoas maravilhosas;

A Fernando Emanuel e seu carro (vulgo negão), por todas as caronas para Cuité, que me ajudou muito na realização deste trabalho.

*“Se caíste, ergue-te e anda. Caminha para frente. Regressa aos teus deveres e esforça-te a cumpri-los. Ora, pedindo a Deus mais força para a marcha. Muitas vezes a queda é uma lição de vida. Quem cai sente do valor do perdão aos caídos. O futuro te espera... Segue e confia em Deus”.*

**Chico Xavier**

## RESUMO

### AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO ETANÓLICO DE PRÓPOLIS VERMELHA CONTRA CEPAS DE *Candida* spp.

A *Candida* é uma levedura comensal que reside em diferentes partes do nosso organismo, mas que pode causar doenças no hospedeiro em situações de desequilíbrio imunológico. A candidíase é uma micose oportunista provocada por esta levedura, a qual pode ser branda, aguda ou crônica, superficial ou profunda, e de espectro clínico bem variável. Assim, o objetivo geral do estudo foi avaliar a possível atividade antifúngica do extrato etanólico de própolis vermelha contra cepas de *Candida*. A determinação da Concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada pela técnica de microdiluição e em triplicata, na qual verificou-se a sensibilidade de cepas de *Candida* a concentrações do extrato de própolis numa variação de 15.000 µg/mL a 29,3 µg/mL. Os valores de CIM foram determinados pela análise visual da inibição do crescimento. Em seguida, adicionou-se cloreto de trifeniltetrazolio (TTC) para determinação da Concentração fungicida mínima (CFM). Os resultados obtidos da CIM variaram de 234,4 µg/mL a 937,5 µg/mL. Percebeu-se que a CFM foi idêntica a CIM. A partir destes resultados em relação ao potencial antifúngico do extrato da própolis, ratifica-se o uso medicinal deste produto para as infecções da cavidade oral, em especial aquelas produzidas pelo gênero *Candida*.

**Palavras-Chave:** *Candida*, própolis vermelha, atividade antifúngica.

## ABSTRACT

### EVALUATION OF ANTIFUNGAL ACTIVITY OF THE ETHANOLIC EXTRACT OF RED PROPOLIS AGAINST CEPAS *Candida* spp.

*Candida* is a commensal yeast that resides in different parts of our body, but can cause host disease in situations of immune imbalance. Candidiasis is an opportunistic mycosis caused by this yeast, which can be mild, acute or chronic, superficial or deep, and with a very variable clinical spectrum. Thus, the general objective of the study was to evaluate the possible antifungal activity of the red propolis ethanolic extract against *Candida* strains. The determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) was performed by microdilution and triplicate technique, in which the sensitivity of *Candida* strains to propolis extract concentrations ranging from 15,000  $\mu\text{g/mL}$  to 29,3  $\mu\text{g/mL}$  was verified. . MIC values were determined by visual analysis of growth inhibition. Then triphenyltetrazolium chloride (TTC) was added to determine the minimum fungicidal concentration (CFM). MIC results ranged from 234,4  $\mu\text{g/mL}$  to 937,5  $\mu\text{g/mL}$ . CFM was found to be identical to MIC. From these results in relation to the antifungal potential of propolis extract, the medicinal use of this product for oral cavity infections, especially those produced by the genus *Candida*, is ratified.

**Keywords:** *Candida*, red propolis, antifungal activity.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Determinação da concentração fungicida mínima, após a adição do trifeniltretazolio (TTC) com concentrações variadas (15000  $\mu\text{g/mL}$  a 29,3  $\mu\text{g/mL}$ ). (N=3).....30
- Figura 2 - Placa de microdiluição para parâmetro comparativo da concentração inibitória mínima do cetoconazol a 2% com concentrações variadas (16  $\mu\text{g/mL}$  a 0,03  $\mu\text{g/mL}$ ) (N=3).....30

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Determinação da concentração inibitória mínima ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) do extrato etanólico de própolis vermelha com concentrações variadas (15000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ a 29,3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). (N=3).....	29
Tabela 2 - Determinação da concentração fungicida mínima ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) do extrato etanólico de própolis vermelha com concentrações variadas (15000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ a 29,3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). (N=3).....	30
Tabela 3 - Comparação da concentração inibitória mínima do cetoconazol a 2%, frente a concentração inibitória mínima do extrato etanólico de própolis vermelha. (N=3).....	31

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASD – Ágar Sabouraud Dextrose

°C – Celsius

CES – Centro de Educação e Saúde

CFM – Concentração Fungicida Mínima

CIM – Concentração Inibitória Mínima

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute

DIU – Dispositivo Intrauterino

DMSO – Dimetilsulfóxido

ES – Escarro

HU – Hospital Universitário

HUAC – Hospital Universitário Alcides Carneiro

KOH – Hidróxido de Potássio

mL – Mililitro

NaCl – Cloreto de Sódio

RNA – Ácido Ribonucleico

SA – Sangue

TTC – Cloreto de trifeniltetrazólio

UFC – Unidades Formadoras de Colônias

UFMG – Universidade Federal de Campina Grande

µg – Micrograma

µL – Microlitro

UR - Urina

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>16</b>
2.1	Objetivo Geral.....	16
2.2	Objetivos Específicos .....	16
<b>3</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>17</b>
3.1	<i>Candida</i> spp.....	17
3.2	Candidíase .....	17
3.3	Epidemiologia.....	18
3.4	Diagnóstico.....	19
3.4.1	Diagnóstico Clínico.....	19
3.4.2	Diagnóstico Laboratorial.....	19
3.5	Tratamento .....	20
3.6	Resistência aos antifúngicos .....	21
3.7	Produtos Naturais .....	23
3.8	Própolis .....	24
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>26</b>
4.1	Local de Trabalho .....	26
4.2	Matéria Prima .....	26
4.3	Fungos .....	26
4.4	Meio de Cultura .....	26
4.5	Inóculo.....	26
4.6	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	27
4.7	Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM) .....	27
4.8	Cadastro SisGen.....	28
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>29</b>
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>33</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	
	<b>ANEXO</b>	

## 1 INTRODUÇÃO

*Candida* é uma levedura comensal que habita diferentes partes do nosso organismo como o trato gastrointestinal, mucosa oral e vagina, sendo consideradas oportunistas, pois pode causar doenças no hospedeiro em situações de desequilíbrio imunológico (MONGE et al., 2006; SGARBI, 2010).

A candidíase é um exemplo de micose oportunista provocada por leveduras do gênero *Candida*, em que a lesão pode ser branda, aguda ou crônica, superficial ou profunda, e de espectro clínico bem variável. Os fatores predisponentes para candidíase compreendem uma diminuição na contagem de linfócitos T-CD4 abaixo de 200 células/mm<sup>3</sup>, tabagismo, uso de terapia imunossupressora, antibioticoterapia, procedimentos cirúrgicos, idade, desnutrição, higiene precária, xerostomia e diabetes mellitus. Além das infecções superficiais este microrganismo pode desencadear infecções sistêmicas que comprometem as vísceras como resultado da disseminação hematogênica, tais complicações infecciosas são documentadas geralmente em pacientes críticos, portadores de doenças degenerativas e/ou neoplásicas (FAVALESSA; MARTINS; HAHN, 2010; DE ROSSI et al., 2011; VIEIRA et al., 2018).

De todas as espécies existentes do gênero *Candida*, a mais encontradas em amostras clínicas é a *Candida albicans*, correspondendo a 70-80% das cepas isoladas, prevalente em infecções superficiais e invasivas. Aproximadamente 80% da população adulta saudável possui espécies de *Candida* no tubo gastrointestinal. Entre as mulheres cerca de 20 a 30% apresentam colonização por *Candida* na vagina, e em hospitais, o gênero *Candida* responde por cerca de 80% das infecções fúngicas documentadas, representando um grande desafio aos médicos de diferentes especialidades, devido às dificuldades diagnósticas e terapêuticas das infecções acarretadas por tais agentes. Todavia espécies não-*albicans* têm surgido como importantes patógenos oportunistas, com predomínio de *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei* (SGARBI, 2010).

Na atualidade, o tratamento de candidíase consiste na administração e utilização de medicamentos, tanto tópico quanto orais, isolados ou associados, dependendo de cada caso. Os fármacos comumente empregados para esta abordagem são, os polienos como a anfotericina B com o desoxicolato e as preparações lipídicas, as pirimidinas, os azólicos como o fluconazol, cetoconazol e o voriconazol e as equinocandinas (COUTO; CARLOS; MACHADO, 2012). Contudo, na última década, notou-se um crescimento na contaminação por *Candida* spp., em pacientes admitidos nas unidades de tratamento intensivo, o que pode estar diretamente relacionado com uso abusivo e indiscriminado de antifúngicos e antibióticos, ocasionando uma

diminuição da sensibilidade das cepas aos medicamentos, acarretando, assim uma resistência do microrganismo aos princípios ativos (GABARDI et al., 2016). Além da preocupação com resistência dos fungos aos antifúngicos, também nota-se uma gama de efeitos adversos que estes fármacos podem desencadear, como intolerância gastrointestinal, hepatotoxicidade, hipersensibilidade, ginecomastia e irregularidade menstrual (MARTINEZ, 2006).

Alguns estudos científicos já comprovam a capacidade do própolis em benefício a saúde, pois o mesmo demonstra um largo espectro de atividades biológicas como antineoplásica, antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória (BITTENCOURT, 2008).

Diante destes problemas apresentados, o aumento da resistência aos antifúngicos e a frequente apresentação de efeitos adversos, o própolis surge como uma alternativa potencial no combate aos microrganismos causadores dessas infecções, possibilitando, assim novas oportunidades de tratamentos. Assim o presente estudo se propôs a avaliar o potencial antifúngico da própolis vermelha frente a espécies do gênero *Candida*.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

- Avaliar atividade antifúngica do extrato etanólico de própolis vermelha contra cepas do gênero *Candida*.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Verificar a concentração inibitória mínima (CIM) do extrato etanólico de própolis vermelha é capaz de inibir o crescimento de cepas do gênero *Candida* e
- determinar a concentração fungicida mínima (CFM) do extrato etanólico de própolis vermelha.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 *Candida* spp.

O gênero *Candida* é formado por cerca de duzentas espécies que constituem parte da microbiota normal humana, podendo ser identificada em inúmeros nichos corporais, como a pele, as mucosas e o trato gastrointestinal (BERNARDO; LIMA, 2015).

Conforme sua taxonomia, o gênero *Candida* está inserido no reino fungi, Filo Ascomycota, Classe Saccharomycetes, Ordem Saccharomycetales, Família Saccharomycetaceae (SGARBI, 2010). É um fungo diploide (levedura), com capacidade adaptativa elevada, que se desenvolve na presença de oxigênio ou em anaerobiose, fazendo com que se reproduzam predominantemente na forma assexuada. Pode causar infecções oportunistas superficiais, bucais, genitais até sistêmicas (SILVA, 2017).

Esta levedura produz a enfermidade se reproduzindo por brotamento e a grande maioria de suas espécies formam pseudo-hifas e hifas nos tecidos. No meio de cultura suas colônias possuem coloração que varia de branca a creme e apresentam superfície rugosa ou lisa (GIACOBINO, 2018).

*Candida albicans* é o exemplo mais frequentemente utilizado para descrição do gênero, devido a sua alta taxa de isolamento em infecções superficiais e invasivas em vários sítios anatômicos, e como precedente da candidíase em todos os locais do mundo. É a espécie com a mais ampla base de conhecimento patogênico, devido a uma alta variedade de fatores de virulência elucidados (TIRASCHI et al., 2007).

#### 3.2 Candidíase

A candidíase está entre as infecções mais comuns adquiridas pelos humanos, tendo a capacidade de se manifestar em diferentes tipos e formas. Um pré-requisito para o surgimento da doença consiste na redução das defesas do organismo, juntamente com aderência dos microrganismo a uma parte do corpo que esteja propícia a proliferação do agente, fazendo com que se inicie o processo patológico (CORRÊA, 2017).

No mundo foram catalogados inúmeros tipos de candidíase, como oral, vulvovaginal, cutânea e hematogênica, mas dentre todas essas formas da doença, a mais recorrente é a candidíase vulvovaginal, tendo na maioria dos casos *Candida albicans* como agente etiológico, circunstância que resulta em forte coceira, odor, prurido, corrimento, ardor ao urinar, eritemas, dispareunia e desconforto vaginal. Os principais fatores predisponentes para a ocorrência da infecção vulvo vaginal são o ato sexual (traumas de mucosa), diferentes tipos de proteção

menstrual e substâncias de higiene íntima, uso contínuo de roupas apertadas, peças íntimas de tecidos sintéticos, gravidez, anticoncepcionais orais e o dispositivo intrauterino (DIU), dentre outros fatores (SHINOBU et al., 2007).

### 3.3 Epidemiologia

As infecções por *Candida* spp. são frequentes na espécie humana, se manifestando preferencialmente em crianças e idosos (MANGUEIRA et al., 2010). Abrangem desde infecções muco cutâneas até infecções invasivas com envolvimento de qualquer órgão e altas taxas de mortalidade (CASTANHEIRA et al., 2017).

*Candida* é um fungo que pode ser encontrado em todas as partes do globo, em razão disto, pesquisas mundiais apontam que existe uma oscilação geográfica significativa na prevalência da candidíase que varia de 1,2% a 87%, visto que, tal incidência independe das condições de desenvolvimento do país ou das condições climáticas, mas dos fatores de riscos aos quais os indivíduos são expostos (ARIFF et al., 2011; CHERMONT et al., 2015; GAMA et al., 2018).

No Brasil, pesquisas realizadas em diferentes regiões demonstraram que a candidíase, está se tornando uma infecção endêmica, revelando uma incidência que varia de 9,3% a 44% dependendo da região (SÁ et al., 2014). Dentre as candidíases existentes, duas se destacam por ocorrerem com maior frequência, são elas a candidíase vulvo vaginal e a candidíase oral (SÁ et al., 2014; CAMARGO et al., 2015).

A candidíase vulvo vaginal afeta principalmente mulheres em idade fértil com faixa etária de 20 a 40 anos, seu principal agente infeccioso é a *Candida albicans*, relatada em 80 a 90% dos casos (PANWAR; FAUJDAR, 2016; BRANDOLT et al., 2017). Cerca de 75% das mulheres em idade fértil apresentam um episódio da doença durante a vida, sendo que destas, 40% a 50% manifestam um segundo episódio (EMERIBE et al., 2015; BHESANIA; NARAYANKHEDKAR, 2017). A ocorrência de quatro ou mais episódios da infecção no período de um ano caracteriza a candidíase vulvovaginal recorrente (CVVR) que representa um grande problema de saúde, sendo estimado que 6% a 9% das mulheres em idade reprodutiva apresentam esse quadro (CAMARGO et al., 2015; GOULART et al., 2016; GLEHN, 2016; BRANDOLT et al., 2017).

A candidíase oral é muito frequente em indivíduos saudáveis, sua taxa de prevalência varia de 20% a 70%, mas em pessoas que fazem o uso de próteses dentais, está incidência tende a se agravar, pois são afetadas pela infecção em associação com estomatite protética, devido os materiais das próteses como a resina acrílica e silicões representarem um perfeito suporte para a formação de biofilmes. Contudo, quando há quebra dos mecanismos de defesa do hospedeiro,

está levedura poderá causar uma proliferação ou infecção da cavidade bucal, independente do uso de próteses dentais, sendo observada principalmente em crianças, idosos e em pacientes imunocomprometidos (KHAN et al., 2016; HARTMANN et al., 2017).

### **3.4 Diagnóstico**

#### **3.4.1 Diagnóstico Clínico**

O diagnóstico clínico das candidíases é realizado através da visualização dos sinais e sintomas relatados pelos pacientes. Os principais sintomas para um prévio diagnóstico de uma infecção causada por esta levedura são: coceira, mucosas esbranquiçadas, odor, prurido, ardor ao urinar, etc. Contudo, o exame clínico não é o bastante para identificação da infecção, visto que os mesmo sintomas provocados por este microrganismo podem ser interpretativos para outras enfermidades. Assim, para que se alcance o isolamento e a determinação do agente infeccioso, é de extrema importância a realização dos exames laboratoriais (GIOLO; SVIDZINSKI, 2010).

#### **3.4.2 Diagnóstico Laboratorial**

Na análise laboratorial, os testes de identificação incluem várias etapas, a primeira delas é a coleta da amostra, realizada de acordo com a sintomatologia do paciente. Para o reconhecimento das leveduras, os testes baseiam-se, na avaliação morfológica e bioquímica do fungo (COUTO; CARLOS; MACHADO, 2012).

A qualidade e o tipo da amostra biológica a ser submetida ao laboratório, são fatores determinantes para o sucesso no isolamento e identificação do agente etiológico (SGARBI, 2010). Os procedimentos utilizados para a coleta das amostras são especificados de acordo com sintomatologia clínica, após esta etapa as amostras devem seguir algumas fases laboratoriais para sua confirmação, como, exame direto, cultura em ágar Sabouraud e ágar Mycosel, provas bioquímicas (ANVISA, 2014).

- **Exame direto**

É usado para pele, unha, tecidos obtidos por biópsia, exsudatos espessos e outros materiais densos. Coloca-se uma gota de KOH (aquoso entre 10 e 40%) em uma lâmina de microscopia, e sobre esta, uma porção da amostra a ser examinada. Cobre-se a preparação com uma lamínula e, para intensificar a clarificação, a mistura é aquecida ligeiramente, sobre a chama de um bico de Bunsen, sem deixar ferver, e após 20 minutos em microscópio óptico comum, observa-se inicialmente com objetiva de 10 x, seguida da de 40 x. O exame direto visa à observação de

blastocônídios e pseudo-hifas. Em alguns casos, dependendo da amostra, pode-se usar as colorações de Gram, Giemsa, dentre outras (ANVISA, 2004).

- **Cultura**

A amostra biológica, além do processamento para evidenciação pelo exame direto, deverá ser utilizada para isolamento do agente etiológico e observação da macromorfologia. Para tanto, deverá ser semeada sobre a superfície do meio de cultura sólido como Àgar Sabouraud, podendo ser em tubos ou placas de Petri. Espécies do gênero *Candida* tendem a apresentar coloração branca ou creme, em colônias leveduriformes homogêneas de textura cremosa e superfície lisa (ANVISA, 2004).

- **Provas Bioquímicas**

São divididas em assimilação (auxanograma) e fermentação (zimograma). No auxanograma, diferentes fontes de carbono mais as de nitrogênio são dispostas em alíquotas sobre a placa de Petri onde a levedura foi semeada previamente. Após incubação à temperatura ambiente ou 25°C, pelo período de 1 semana, a levedura irá assimilar e crescer ou não em volta de determinadas fontes, de acordo com o metabolismo característico da sua espécie. A leitura é feita pelo halo de turvação resultante do crescimento, e indica prova de assimilação positiva para a respectiva fonte. Para o zimograma, diversas fontes de carboidratos são colocadas em tubos respectivos, contendo meio básico líquido. A levedura é semeada em cada tubo e após um período de até 15 dias a 25°C, a fermentação é revelada por formação de bolhas de gás, observadas dentro de tubos de Durhan, colocados previamente, durante a preparação do meio básico. Os resultados do auxanograma e do zimograma são comparados a tabelas existentes na bibliografia, assim diferentes espécies possuem distintos perfis de assimilação e fermentação (ANVISA, 2004).

### **3.5 Tratamento**

Nos dias de hoje as opções terapêuticas mais efetivas no tratamento contra a *candida*, são oriundas de um grupo de medicamentos com atividade antifúngica dividida em três classes, entre as quais estão presentes as equinocandinas, os azólicos e os poliênicos (SIQUEIRA et al., 2015).

As equinocandinas fazem parte de uma classe de antifúngicos representada por fármacos como a caspofugina, micafungina e anidulafungina. São indicadas principalmente no tratamento de candidíase esofágica, sistêmica e invasiva, além de demonstrarem atividade antifúngica contra cepas resistentes aos triazólicos (CHAKRABARTI, 2009). Tem como mecanismo de ação a inibição não competitiva da enzima  $\beta$ -1,3-glicano sintase, que acelera a

polimerização da glicose-uridina-difosfato (UDPglicose) em  $\beta$ -1,3-glicano. Quando a síntese deste polímero sofre um bloqueio, ocorre o extravasamento de componentes da célula, como resposta à alta pressão osmótica exercida sobre a membrana enfraquecida (ZAAS, 2008). Ao contrário de outras classes de fármacos antifúngicos, que agem em membranas celulares fúngicas, as equinocandinas inibem a síntese da parede celular do fungo (ESCHENAUER et al., 2007).

Os antifúngicos azólicos são divididos em dois subgrupos: os imidazólicos, fármacos que apresentam toxicidade elevada, o que compromete a sua maior utilização. Os principais antifúngicos deste grupo são: cetoconazol, miconazol e clotrimazol. O outro subgrupo são os triazólicos que devido a seu espectro de atividade e excelente perfil de segurança, tornaram-se os mais utilizados no tratamento das infecções fúngicas invasivas. Os principais representantes desse grupo são: fluconazol, itraconazol e voriconazol (ARNOLD et al., 2010; VASCONCELOS; MENEZES; CUNHA, 2011).

O mecanismo de ação dos azólicos fundamenta-se na inibição da enzima esterol-14- $\alpha$ -dimetilase, vinculada ao citocromo P450 que transforma lanosterol em 14- $\alpha$ -dimetillanosterol em uma das fases de biossíntese do ergosterol. Esse bloqueio leva ao aumento da concentração de 14- $\alpha$ -metilesteróis, que não possuem a mesma forma e características físicas do ergosterol, levando a criação de uma membrana com propriedades alteradas, que não exerce as funções básicas necessárias ao desenvolvimento do fungo. Também atuam modificando a síntese de lipídios, desativando enzimas do processo oxidativo dos fungos (PIGATTO; UCHOA; COSTA, 2009).

Os poliênicos são uma classe antifúngica composta pela anfotericina B, a nistatina e a natamicina. Esses antifúngicos são indicados principalmente para infecções causadas por *Candida albicans*. O seu mecanismo de ação corresponde ao aumento da permeabilidade celular, através da formação de poros ou canais ao ligar-se com o ergosterol da membrana celular fúngica, e ação oxidativa sobre as células, alterando suas funções metabólicas (ANVISA, 2004; GAFTER-GVILI et al., 2008; CORRÊA, 2017).

### **3.6 Resistência aos antifúngicos**

Nos dias atuais há uma grande preocupação na área microbiológica com relação ao aumento da resistência dos microrganismos aos fármacos, tanto frente aos antibacterianos quanto aos antifúngicos. A resistência *in vitro* aos antifúngicos ainda é baixa, sendo considerada primária em alguns casos. Entretanto, o uso profilático de antifúngicos em pacientes com alto risco de desenvolver infecções fúngicas invasivas tem alterado o perfil das leveduras. Diversos estudos

realizados pelas comunidades científicas, vem conseguindo explicar os perfis de resistência da *Candida* contra inúmeros antifúngicos (PARÓLA, 2010; GIOLO; SVIDZINSKI, 2010).

Um dos mais utilizados é o fluconazol, que provou ser ativo contra várias espécies de *Candida*, com taxas de susceptibilidade superiores a 90%. O que acabou provocando um uso generalizado na prática clínica, levando a uma aquisição emergente na resistência do gênero *Candida* ao medicamento. Assim, nos dias atuais, os testes de suscetibilidade a antifúngicos são fundamentais para que o tratamento seja conduzido de maneira mais segura, correta e eficaz. Pelo antifungigrama é possível monitorar e detectar cepas de *Candida* resistentes, auxiliando o clínico na escolha terapêutica antifúngica adequada (PARÓLA, 2010; GIOLO; SVIDZINSKI, 2010).

Na literatura tem sido relatada ocorrência relativamente baixa de casos de resistência à anfotericina B, pois mutações que levam a esse tipo de resistência trazem consequências à sobrevivência da levedura, diminuindo drasticamente sua tolerância a estresses externos bem como aumentando a ocorrência de defeitos na filamentação e invasão tecidual (VINCENT et al., 2013). Os mecanismos envolvidos em aumento de resistência à anfotericina B resultam de alterações na composição da membrana plasmática fúngica, alterações quantitativas de esfingolípídeos na membrana com diminuição da formação de ergosterol e funcionamento incorreto de bombas de efluxo, mutação do gene *ERG3*, que leva à formação de esteróis com menor afinidade de ligação da anfotericina B (JENSEN et al., 2015) e superexpressão de bombas de efluxo (REN et al., 2014).

Esfingolípídeos podem modular a resistência à anfotericina B. Eles são necessários para vários processos celulares, incluindo a manutenção da integridade da membrana plasmática e bom funcionamento de certas proteínas da membrana. Alterações na composição da membrana, como o aumento de esfingolípídeos, podem afetar positivamente o funcionamento de bombas de efluxo. A quantidade de esfingolípídeos presentes na membrana é balanceada com a de ergosterol, sendo que, se há uma alteração quantitativa nos esfingolípídeos também haverá no ergosterol, e, conseqüentemente, na oferta de sítio de ligação de anfotericina B (SHARMA et al., 2014).

Além disso, a diminuição da produção de ergosterol causada pelo tratamento anterior com azólicos pode levar secundariamente a um aumento de resistência a anfotericina B devido à menor oferta de sítio de ligação e possível superexpressão de bombas de efluxo (SHARMA et al., 2014). Por fim, outro mecanismo de resistência reportado é o da redução da sensibilidade

ao antifúngico em resposta adaptativa ao estresse oxidativo induzido pela ação de anfotericina B (LINARES et al., 2013).

Jia e colaboradores (2009), reportaram que o gene *RTA2* está envolvido no surgimento de resistência aos azólicos em *Candida albicans* por meio da regulação positiva da calcineurina. A calcineurina é uma fosfatase ativada por  $Ca^{2+}$  e calmodulina, que esta presente em células eucariontes e atua na sinalização da célula fúngica em resposta a estímulos externos (JIA et al., 2009).

O *RTA2* está envolvida na redução de sensibilidade *in vitro* de *Candida albicans* ao fluconazol, bloqueando sua capacidade de danificar a membrana através da regulação da calcineurina (JIA et al., 2012). Quando há mutação na calcineurina, esta se torna inviável na redução da sensibilidade de fluconazol e outros azólicos, tornando assim a calcineurina essencial para o desenvolvimento de resistência (SANGLARD et al., 2003; HAMEED et al., 2011).

Com relação a caspofungina, essa não sofre os efeitos da bomba de efluxo presentes em *Candida albicans* já que não atinge concentrações apreciáveis no ambiente intracelular da levedura (CANNON et al., 2009). Contudo, há relatos de diminuição da susceptibilidade de *Candida albicans* à caspofungina relacionada à mutação no gene *FKSI* que codifica a enzima b-1,3-D-glucano-sintase (JENSEN et al., 2015). Múltiplas mutações em *FKSI* têm um maior risco de falha terapêutica, e as várias mutações *FKSI SH* diferem em elevações nas concentrações inibitórias mínimas do antifúngico (LACKNER et al., 2014).

### 3.7 Produtos Naturais

Desde a antiguidade, o uso de plantas medicinais tem sido de grande importância no tratamento de doenças e enfermidades. Muitas plantas apresentam atividade biológica benéfica ao ser humano e o grande desafio do último século tem sido elucidar e legitimar cientificamente espécies vegetais com potencial farmacológico (DUTRA et al., 2016; SINGH et al., 2016).

Existem características muito importantes que devem estar presentes nas plantas a fim de que elas possam ser usadas como forma alternativa de tratamento. Dentre tais características, incluem-se eficácia, reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Para que essa prática seja realizada de forma segura, faz-se necessário a apropriada orientação, a fim de assegurar o uso correto, de forma que se previnam intoxicações e também a perda da efetividade dos princípios ativos encontrados nas plantas, uma vez que cada uma tem sua forma de preparo adequada. Inúmeras plantas medicinais são fontes promissoras de compostos bioativos que dispõem de

boa atividade farmacológica e, ao mesmo tempo, estão isentas de efeitos não desejáveis encontrados nos medicamentos utilizados atualmente (VIEIRA, 2017; MEDEIROS et al., 2018).

Tendo em vista essa ampla gama de efeitos benéficos, estes produtos naturais tem chamado a atenção da comunidade científica, pois algumas dessas plantas apresentam potenciais efeitos antifúngicos, o que é altamente relevante, pois na atualidade a um crescente problema da resistência de fungos patogênicos a múltiplos fármacos e a ocorrência de efeitos tóxicos nas terapias utilizadas (VIEIRA, 2017; MEDEIROS et al., 2018).

### **3.8 Própolis**

O própolis é um produto opoterápico de característica resinosa, obtido pelas abelhas através da colheita de resinas da flora da região, alteradas pela a ação de enzimas contidas em sua saliva. A cor, sabor e aroma da própolis variam de acordo com sua origem botânica (DAUGSCH et al., 2008; BRASIL, 2018).

É usado pelo homem desde a antiguidade na medicina popular e, mais recentemente, na indústria de alimentos e bebidas, cosméticos, antissépticos bucais e cremes dentais (WAGH, 2013). A fórmula química é complexa e variável sendo altamente influenciável pela vegetação no local de coleta (DUTRA et al., 2008; SILVA et al. 2008; GUO et al., 2011; PICCINELLI et al, 2011; SFORCIN; BANKOVA, 2011; ATHIKOMKULCHAI et al., 2013) e pela sazonalidade, o que pode interferir em suas propriedades biológicas (SIMÕES-AMBROSIO et al., 2010).

A composição química do própolis vem sendo analisada por diversos estudiosos, e compostos fenólicos, como flavonoides e derivados do ácido cinâmico estão entre os mais citados (LUSTOSA et al., 2008; POPOVA et al., 2010). Dentre todas as substâncias contidas no própolis as que mais se destaca são os flavonóides, responsáveis pela a atividade antimicrobiana desempenhada e outras diversas ações, como antioxidante, antidiabética, antiparasitária, antitumoral, anti-herpética, anti-inflamatória e analgésica (BOUKRAA; SULAIMAN, 2009; BURIOL et al., 2009; SAWAYA et al., 2009).

No Brasil existem mais de dez subtipos, incluindo a própolis verde, própolis vermelha, própolis marrom, própolis amarela, própolis preta e geoprópolis. Esses são diferenciados pela cor, pelo odor e pela consistência. A própolis vermelha é encontrada na região norte e nordeste do Brasil e presente, por exemplo, nos manguezais dos estados da Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia. A resina coletada pelas abelhas para sua fabricação é proveniente de uma planta conhecida popularmente como rabo de bugio (*Dalbergia ecastophyllum*). Essa

planta secreta um exsudato (secreções) de cor vermelha (o que explica sua coloração) pelas frestas abertas por insetos em seu caule, assim, possibilitando que as abelhas recolham essa resina para a produção da própolis. Essa própolis possui como constituinte majoritários os compostos fenólicos, do tipo flavonoides, antraquinonas e fenóis (NUNES et al., 2009).

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 Local de Trabalho**

Os testes de atividade antifúngica foram realizados no Laboratório de Microbiologia do Centro de Educação e Saúde-CES, da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), campus Cuité/PB.

### **4.2 Matéria Prima**

A matéria prima de escolha para este estudo, foi o extrato etanólico de própolis vermelha, adquirido com recursos próprios em uma farmácia localizada na cidade de Cuité, Paraíba para a realização dos testes microbiológicos. A concentração contida no rótulo do produto é de 30% de própolis vermelha em sua composição. Este produto foi produzido pela empresa Apis Flora na cidade de Ribeirão Preto, São Paulo.

### **4.3 Fungos**

As leveduras que foram utilizadas nos ensaios de atividade biológica são provenientes de isolados clínicos de culturas feitas no setor de microbiologia do laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC). Foram utilizadas as seguintes cepas: *Candida albicans* HU-01; *Candida albicans* ES-01; *Candida haemulloni* SA-01; *Candida parapsilosis* UR-01.

### **4.4 Meio de Cultura**

O Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) foi utilizado para manutenção das leveduras teste e o caldo Sabouraud dextrose duplamente concentrado foi o meio de cultura de escolha para realização dos ensaios microbiológicos. Ambos foram preparados de acordo com as instruções do fabricante. Sendo solubilizados com água destilada e esterilizados em autoclave, a 121 °C por 15 minutos.

### **4.5 Inóculo**

Na preparação do inóculo dos fungos, os isolados foram primeiramente cultivados em meio ASD inclinado a 37°C por 24 horas (*overnight*). Inicialmente foram preparadas suspensões dos microrganismos em tubos contendo salina estéril (NaCl a 0,85% p/v). Todas as suspensões foram agitadas por 2 minutos com auxílio do aparelho Vortex Biomixer. Após agitação, cada suspensão teve sua turbidez comparada e ajustada, utilizando o aparelho Espectrofotômetro Bel

Photonics SP 1102, para a transmitância de 70%, no comprimento de onda de 530 nm, correspondendo, aproximadamente a  $10^6$  UFC/mL (SOUZA et al., 2007; MOREIRA et al., 2010).

#### **4.6 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)**

A determinação da CIM foi realizada pela técnica de microdiluição, utilizando placas de microtitulação contendo 96 cavidades com fundo em forma de “U” (SOUZA et al., 2007; MOREIRA et al., 2010). Essa etapa foi determinada conforme recomendações da norma técnica e M27-A2 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ambas publicadas em 2002.

Em cada orifício da placa de microdiluição foram adicionados 100  $\mu$ L do caldo Sabouraud dextrose. Em seguida, 100  $\mu$ L da substância teste foi adicionada na primeira cavidade e diluições seriadas sucessivas foram feitas, de forma que as concentrações variando de 15000  $\mu$ g/mL a 29,3  $\mu$ g/mL fossem alcançadas. Em seguida, 10  $\mu$ L da suspensão fúngica a  $0,4 \times 10^5$  a  $5 \times 10^5$  UFC/mL foram adicionados a cada orifício da placa contendo o meio com produto.

Um controle de viabilidade do microrganismo foi realizado colocando-se em determinadas cavidades 100  $\mu$ L do meio sem os produtos teste com microrganismos. Paralelamente, foi realizado o mesmo experimento com o antifúngico cetoconazol. O cetoconazol foi dissolvido em dimetilsulfóxido (DMSO) e diluído no meio de cultura até atingir 0,03  $\mu$ g/mL a 16  $\mu$ g/mL. Para o controle da viabilidade do meio de cultura, foi dissolvido o DMSO no meio ASD, no intuito de confirmar que o DMSO não apresentaria qualquer efeito inibitório. Ao final, todas as placas foram seladas e incubadas 37°C por um período de 24 e, posteriormente, 48 horas.

A determinação dos valores de CIM define-se a partir da menor concentração capaz de inibir 100% do crescimento fúngico, sendo avaliada pela visualização da inibição do crescimento em cada cavidade, comparando com o controle (ausente de drogas). Os ensaios foram realizados em triplicata e o resultado expresso pela média geométrica.

#### **4.7 Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM)**

Nesta última etapa, foram adicionados 10  $\mu$ L de cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) em cada cavidade, sendo a placa então incubada em estufa sob temperatura de 37°C durante um período de tempo de 2 horas, aproximadamente, possibilitando observar a presença ou ausência da coloração rosa/avermelhada deste composto nas cavidades, esta reação indica se há microrganismos viáveis ou não, havendo presença da coloração, significa que os microrganismos resistiram ao princípio ativo utilizado. Em seguida, todo o sistema foi incubado

novamente à 37°C. Estes ensaios foram realizados em triplicata. A CFM foi definida como a menor concentração dos produtos testados onde a cepa teste não mostrou capacidade de crescimento, após não apresentar a coloração provinda do TTC (RASOOLI; ABYANEH, 2004).

#### **4.8 Cadastro SisGen**

A atividade de acesso ao patrimônio genético foi cadastrada no SisGen em atendimento a Lei nº 13.123/2015 sob o número de cadastro A0D09C9.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos após as microdiluições para avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) demonstraram que o extrato de própolis vermelha foi capaz de inibir todas as cepas de *Candida* testadas, com uma CIM variando de 234,4 a 937,5  $\mu\text{g/mL}$  (tabela 1).

**Tabela 1.** Determinação da concentração inibitória mínima ( $\mu\text{g/MI}$ ) do extrato etanólico de própolis vermelha com concentrações variadas (15000  $\mu\text{g/mL}$  a 29,3  $\mu\text{g/mL}$ ). (N = 3).

<b>Microrganismos</b>	<b>[ ] extrato etanólico de própolis vermelha (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>
<i>C. albicans</i> HU-01	234,4
<i>C. albicans</i> ES-01	468,8
<i>C. haemulonii</i> SA-01	468,8
<i>C. parapsilosis</i> UR-01	937,5

Fonte: Própria Autoria.

Contudo, segundo estudo publicado por Morales e colaboradores (2008), valores de CIM para extratos vegetais entre 100 e 500  $\mu\text{g/mL}$ , situação apresentada nesse estudo, configuram atividade antimicrobiana moderada.

Quanto a um possível mecanismo de ação da própolis vermelha contra *Candida* spp., de acordo com estudos realizados por Scazzocchio e colaboradores (2005) e Pippi e colaboradores (2015), sugere-se que o composto atue sobre a parede celular do fungo. De acordo com outros estudos como o de Packer (2007), Portilho e colaboradores (2013) e D' Auria e colaboradores (2003), indicam que a própolis inibe a atividade da enzima extracelular fosfolipase e prejudica a adesão das células fúngicas as células epiteliais.

Para obtenção da CFM das amostras de *Candida*, foi utilizado uma solução de cloreto de trifeniltetrazólio (TTC). Este agente químico revela a atividade das enzimas desidrogenase envolvidas no processo de respiração celular, através de uma reação entre suas propriedades químicas e o microrganismo presente, assim distinguindo células vivas, que obtém coloração avermelhada, das não viáveis, que mantem a sua cor (TARAFDAR, 2003). Após a adição do composto na placa, foi visualizada uma reação de cor avermelhada nas cavidades em que não ocorreu a eliminação do agente patogênico pelo extrato de própolis vermelha, determinando visualmente a CFM obtida (figura 1).

**Figura 1.** Determinação da concentração fungicida mínima, após a adição do trifeniltretazolio (TTC) com concentrações variadas (15000  $\mu\text{g/mL}$  a 29,3  $\mu\text{g/mL}$ ). (N = 3).



Fonte: Própria autoria.

De acordo com a análise visual da placa de microdiluição onde foi determinada a CFM, percebe-se que os valores da concentração fungicida mínima foram os mesmos da CIM para as cepas testadas (tabela 2).

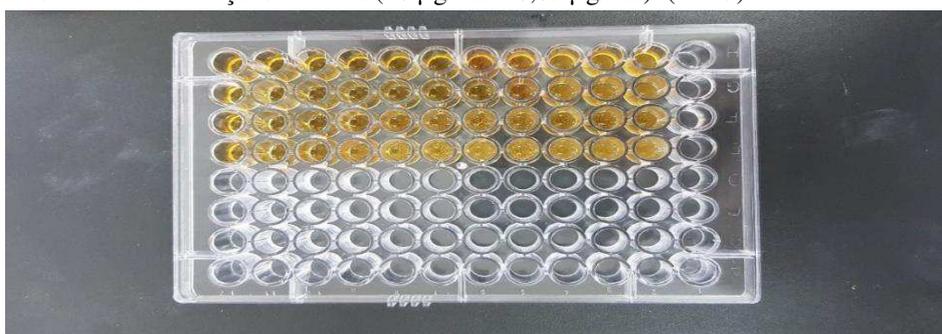
**Tabela 2.** Determinação da concentração fungicida mínima ( $\mu\text{g/MI}$ ) do extrato etanólico de própolis vermelha com concentrações variadas (15000  $\mu\text{g/mL}$  a 29,3  $\mu\text{g/mL}$ ). (N = 3).

Microrganismos	[ ] extrato etanólico de própolis vermelha ( $\mu\text{g/mL}$ )
<i>C. albicans</i> HU-01	234,4
<i>C. albicans</i> ES-01	468,8
<i>C. haemulonii</i> SA-01	468,8
<i>C. parapsilosis</i> UR-01	937,5

Fonte: Própria autoria.

Para elaboração de um parâmetro comparativo dos resultados obtidos nos testes de CIM e CFM realizados, foi preparada uma placa de microdiluição contendo o antifúngico cetoconazol a 2%, utilizando como método de referência CLSI (figura 2).

**Figura 2.** Placa de microdiluição para parâmetro comparativo da concentração inibitória mínima do cetoconazol a 2% com concentrações variadas (16  $\mu\text{g/mL}$  a 0,03  $\mu\text{g/mL}$ ). (N = 3).



Fonte: Própria autoria.

A partir deste teste, foi observado que o cetoconazol obteve um melhor desempenho na inibição do crescimento das cepas utilizadas do que o extrato, apresentando resultados de CIM que variaram de 0,25 µg/mL a 4 µg/mL, podendo observados na tabela 3.

**Tabela 3.** Comparação da concentração inibitória mínima do cetoconazol a 2%, frente a concentração inibitória mínima do extrato etanólico de própolis vermelha. (N = 3).

<b>Microrganismos</b>	<b>[ ] Extrato etanólico de própolis vermelha (µg/mL)</b>	<b>[ ] Cetoconazol 2% (µg/mL)</b>
<b><i>C. albicans</i> HU-01</b>	234,4	0,25
<b><i>C. albicans</i> ES-01</b>	468,8	0,125
<b><i>C. haemulonii</i> SA-01</b>	468,8	4
<b><i>C. parapsilosis</i> UR-01</b>	937,5	2

Fonte: Própria autoria.

Segundo as análises de Parker e Luz (2007), os componentes ativos do própolis também obtiveram uma certa capacidade fungicida, quando colocados frente a leveduras da espécie *Candida albicans*, comprovando assim, que o própolis pode agir como uma alternativa relevante no combate a fungos que causam infecções oportunistas.

Estudo realizado por Fianco (2013), utilizando extrato etanólico de própolis vermelha, demonstraram que o própolis não só tem atividade contra *C. albicans*, mas também contra outras espécies de *Candida*, como *C. glabrata*, *C. kruzei* e *C. tropicalis*, destacando-se entre elas a cepa RL03 de *C. glabrata*, a qual obteve uma CIM de 31,2 µg/mL. As espécies mais resistentes foram as cepas de *C. tropicalis* e *C. kruzei*, com valores de CIM que variaram de 250 µg/mL a 500 µg/mL.

Observa-se que os resultados apresentados neste estudo estão em sintonia com estudos predecessores publicados na literatura. Segundo Queiroz (2010), que estudou a atividade de extratos etanólicos de três tipos de própolis contra espécies de *Candida* através da CIM e CFM, as frações da própolis vermelha foram as que apresentaram menores valores de CIM. Todas as cepas apresentaram sensibilidade a atividade fungicida da própolis e, dentre as utilizadas neste trabalho, a *C. albicans* HU-01 apresentou uma CIM de 234,4 µg/mL. Enquanto isso, Fasolo e colaboradores (2013), observou atividade de extrato etanólico de própolis vermelha frente cepas do gênero *Candida* e concluiu que tal atividade era devido a presença de benzofenonas.

Percebe-se ainda, em tempos de resistência antifúngica crescente, que os resultados obtidos sobre a inibição das cepas selvagens de *Candida* pelo antifúngico comercial cetoconazol foram satisfatórios, tendo em vista os baixos valores de CIM observados.

Com relação a toxicidade, vários estudos como o Ahn e colaboradores (2007), Dantas e colaboradores (2006) e Pinto e colaboradores (2011), indicam que a própolis apresenta baixa toxicidade inata, justificado pela presença dos flavonóides, seus principais constituintes, que apresentam uma toxicidade quase nula. Assim, segundo estudos realizados por Ahn e colaboradores (2007), após testes efetuados em animais, pode-se deduzir que a utilização de aproximadamente 70 mg ao dia de própolis, é uma dosagem considerada segura em humanos.

Com relação a reações alérgicas, constatou-se na Rússia que geralmente as pessoas alérgicas a picadas de abelhas também são alérgicas ao uso ou à aplicação de própolis, mel, geleia real e pólen. Talvez isso pode ser explicado devido ao fato das secreções glandulares das abelhas, assim como algumas enzimas, fazerem parte dos produtos apícolas. Estima-se que apenas uma pessoa em cem sofre deste fenômeno (PINTO; PRADO; CARVALHO, 2011).

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos estudos realizados nesta pesquisa, observou-se que os resultados obtidos permitem inferir que o extrato etanólico de própolis vermelha analisado, apresenta uma moderada atividade antifúngica frente a cepas de *Candida albicans*, apresentando CIM de 234,4 µg/mL e CFM de 234,4 µg/mL.

Quando comparado ao cetoconazol, visualizou-se que extrato não foi tão eficiente, conforme as concentrações utilizadas, mas o própolis continua sendo uma importante alternativa opoterápico, pois mesmo quando utilizado de forma empírica pela população, se dá em altas concentrações, levando a uma eliminação altamente eficiente do microrganismo.

Assim, ratifica-se o uso medicinal deste produto para infecções causadas por fungos, em especial aquelas que são produzidas pelo gênero *Candida*.

## REFERÊNCIAS

AHN, M. R. et al. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. **Food Chemistry**, v. 4, n. 101, p. 1383-1392, 2007.

ANVISA (Brasil). Detecção e Identificação dos Fungos de Importância Médica. Módulo VII, 2004. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod\\_7\\_2004.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_7_2004.pdf). Acesso em: 20/11/2018

ANVISA (Brasil). Modulo 8 – Detecção e identificação de fungos de importância Médica, 2014. Disponível em: <https://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/publicacoes/item/detecção-e-identificacaod-de-fungos-de-importancia-medica>, Acesso em: 10/11/2018.

ARIFF, S. et al. Clinical spectrum and dutcomes of neonatal candidiasis in a tertiary care hospital in karachi, pakistan. **Jornal of infection developing countries**, Karachi, v. 5, n. 3, p. 216-223, 2011.

ARNOLD, T. M. et al. Traditional and emerging antifungal therapies. **Proceedings of the American Thoracic Society**, v. 7, n. 3, p. 222-228, 2010.

ATHIKOMKULCHAI, S. et al. Chemical constituents of Thai propolis. **Fitoterapia**, v. 88, n. 3, p. 96-100, 2013.

BERNARDO, K. M.; LIMA, A. P. Ocorrência de candidíase no exame citológico de pacientes do hospital geral de curitiba. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 8, n. 4, p. 198-206, 2015.

BITTENCOURT, F. O. Desenvolvimento e avaliação da atividade antimicrobiana contra *Candida albicans* de formulações semi-sólidas contendo própolis vermelha, 2008.

BOUKRAA, L.; SULAIMAN, S.A. Rediscovering the antibiotics of the hive. **Antiinfection Drug Discovery**, v. 4, n. 6, p. 206-213, 2009.

BHESANIA, A. H.; NARAYANKHEDKAR, A. Vulvovaginal Candidosis. **International Journal of Current Microbiology and a Applied Sciences**, v. 6, n. 1, p. 240–250, 2017.

BRANDOLT, T. M. et al. Prevalence of *Candida* spp. in cervical-vaginal samples and the in vitro susceptibility of isolates. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 145–150, 2017.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA-EXECUTIVA. SECRETARIA DE ATENÇÃO A SAÚDE. Glossário temático: práticas integrativas e complementares em saúde / Ministério da saúde, Secretaria-Executiva, Secretaria de Atenção à Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, p. 180, 2018.

BURIOL, L. et al. Composição química e atividade biológica de um extrato oleoso de propolis: uma alternativa ao extrato etanólico. **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 296-302, 2009.

CAMARGO, K. C. et al. Secreção vaginal anormal: Sensibilidade, especificidade e concordância entre o diagnóstico clínico e citológico. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 37, n. 5, p. 222–228, 2015.

CANNON, R. D. et al. Efflux-mediated antifungal drug resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 2, n. 22, p. 291-321, 2009.

CASTANHEIRA, M. et al. Monitoring Antifungal Resistance in a Global Collection of Invasive Yeasts and Molds: Application of CLSI Epidemiological Cutoff Values and Whole-Genome Sequencing Analysis for Detection of Azole Resistance in *Candida albicans*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, n. 10, p. 1-20, 2017.

CHAKRABARTI, A.; SHIVAPRAKASH, M. R. New Antifungal Agents in Pediatric Practice. **Indian Pediatrics**; v.46, p.225-231, 2009.

CHERMONT, A. G. et al. Candidemia em unidade materno infantil de referência: aspectos clínico-epidemiológicos e fatores de risco em prematuros com peso inferior a 1.500 g. **Revista Pan-Amazônica de Saude**, v. 6, n. 4, p. 35-38, 2015.

CORRÊA, R. O. Avaliação in vitro da atividade antifúngica de extratos vegetais frente aos principais microrganismos causadores da candidíase. (Dissertação de Mestrado do curso de Pós Graduação em Saúde), Juiz de fora-MG, 2017.

COUTO, E. M.; CARLOS, D.; MACHADO, E. R. Candidíase em neonatos: uma revisão epidemiológica. **Ensaio e Ciência: Ciência Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 15, n. 4, p. 197-213, 2012.

DANTAS, A. P. et al. Treatment of *Trypanosoma cruzi* - infected mice with propolis promotes changes in the immune response. **Journal Ethnopharmacol**, v. 2, n. 103, p. 187–196, 2006.

DAUGSCH, A. et al. Brazilian red propolis-chemical composition and botanical origin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 5, n. 4, p. 435-441, 2008.

D'AURIA, F.D. et al. Effect of propolis on virulence factors of *Candida albicans*. **Journal Chemother**, v. 15, p. 454-460, 2003.

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

DUTRA, R.P. et al. Avaliação farmacognóstica de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith da baixada Maranhense. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 2, p. 557-562, 2008.

DUTRA, R. C. et al. Medicinal plants Brazil: pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, v. 112, n. 1, p. 4-29, 2016.

EMERIBE, A. U.; NASSIR, I. A.; IFUNANYA, A. L. Prevalence of vulvovaginal candidiasis among nonpregnant women attending a tertiary health care facility in Abuja Prevalence of vulvovaginal candidiasis among nonpregnant women attending a tertiary health care facility in Abuja, Nigeria. **Research and Reports in Tropical Medicine**, v. 6, n. 2, p. 37–42, 2015.

ESCHENAUER, G.; DEPESTEL, D.D. & CARVER, P.L. Comparison of echinocandin antifungals. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, v. 3, n. 1, p. 71-97, 2007.

FASOLO, D. et al. Investigation of antifungal potential of native Brazilian, red and green propolis - a comparative study. 5th Meeting of the Pharmaceutical Sciences Graduate Program. **Mercosur Meeting on Pharmaceutical Sciences**. Porto Alegre, RS. Novembro, 2013.

FAVALESSA, O. C.; MARTINS, M. A.; HAHN, R. C. Aspectos micológicos e suscetibilidade in vitro de leveduras do gênero *Candida* em pacientes HIV positivos provenientes do estado de Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Uberaba, v. 43, n. 6, p. 673-677, 2010.

FIANCO, A. L. B. et al. Determinação da atividade antimicrobiana e teor de polifenóis totais de extratos etanólicos de própolis das abelhas sem ferrão *Tetragonisca angustula* (Jataí) e *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna). **Revista Liberato**, v. 14, n. 21, p. 1-112, 2013.

GABARDI, S. et al. Micafungin treatment and eradication of candiduria among hospitalized patients. **International urology and nephrology**, v. 48, n. 11, p. 1881–1885, nov. 2016.

GAFTER-GVILI, A. et al. Treatment of invasive candida infections: systematic review and meta-analysis. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 83, n. 9, p. 1011-1021, 2008.

GAMA, M. R. et al. Candidíase pseudomembranosa oral em neonato: relato de caso. **Revista da Academia Brasileira de Odontologia**, v. 27, n. 2, p. 116-120, 2018.

GIACOBINO, J. Aspectos microbiológicos e ambientais de candidemias em hospital terciário (hc/fmb/unesp/botucatu) localizado na região centro - sul do estado de são paulo, Brasil, 2018.

GIOLO, M. P.; SVIDZINSKI, T. I. Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 46, n. 3, p. 225-234, 2010.

GLEHN, M. D. P. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* and *Candida albicans* among Brazilian Women of Reproductive Age. **Journal of clinical and diagnostic research**, v. 10, n. 11, p. 24-27, 2016.

GOULART, L. S. et al. Species distribution and antifungal susceptibility to vulvovaginal *Candida* spp. in southern Mato Grosso State, Brazil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 52, n. 4, p. 233–237, 2016.

GUO, S. et al. Chemical composition, biological activity and application in animal science of propolis - A review. International Conference on Agricultural and Biosystems Engineering. **Advances in Biomedical Engineering**, v. 2, n. 3, p. 98-101, 2011.

HAMEED, S. et al. Calcineurin signaling and membrane lipid homeostasis regulates iron mediated multidrug resistance mechanisms in *Candida albicans*. **Public library of Science**, v. 4, n. 6, e18684, 2011.

HARTMANN, A. et al. Incidência de *Candida* spp. na mucosa oral de pacientes infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) no município de Santo Ângelo-RS. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 6, n. 3, p. 125-130, 2017.

JENSEN, R. H. et al. Stepwise emergence of azole, echinocandin and amphotericin B multidrug resistance in vivo in *Candida albicans* orchestrated by multiple genetic alterations. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 9, n. 70, p. 2551-2555, 2015.

JIA X. M. et al. RTA2 is involved in calcineurin-mediated azole resistance and sphingoid long-chain base release in *Candida albicans*. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 1, n. 66, p. 34-122, 2009.

JIA, Y. et al. Calcium-Activated-Calcineurin Reduces the In Vitro and In Vivo Sensitivity of Fluconazole to *Candida albicans* via Rta2p. **Public library of Science**, v. 10, n. 7, e48369, 2012.

LACKNER, M. et al. Positions and Numbers of FKS Mutations in *Candida albicans* Selectively Influence In Vitro and In Vivo Susceptibilities to Echinocandin Treatment. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 7, n. 58, p. 35-3626, 2014.

LINARES, C. E. et al. Fluconazole and amphoterecin-B resistance are associated with increased catalase and superoxide dismutase activity in *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 6, n. 46, p. 8-752, 2013.

LUSTOSA, S.R. et al. Propolis: Updates on chemistry and pharmacology. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 5, p. 447-454, 2008.

KHAN, M. A.; DHADED, S.; JOSHI, S. *Candida albicans* growth on soft denture reliner: in vitro study. **Journal of clinical and diagnostic research**. v. 10, n. 2, p. 42-45, 2016.

MANGUEIRA, D. F. B.; MANGUEIRA, L. F. B.; DINIZ, M. F. F. M. Candidose oral. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, V. 14, n. 2, p. 69-72, 2010.

MARTINEZ, R. Atualização no uso de agentes antifúngicos . **Jornal Brasileiro Pneumologia**, v. 32, n. 5, p. 60-449, 2006.

MEDEIROS, C. I. et al. Atividade anti-*Candida tropicalis* dos enantiômeros (R)-(+)- & (S)-(-) – citronelal em associação com cetoconazol. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 17, n. 1, p. 57-60, 2018.

MOLINA, F. P. et al. Própolis, sálvia, calêndula e mamona – atividade antifúngica de extratos naturais sobre cepas de *Candida albicans*. **Revista Ciência Odontológica Brasileira**, v. 11, n. 2, p. 86-93, 2008.

MONGE R. A. et al. The MAP kinases signal transduction network in *Candida albicans*. **Microbiology**, v. 152, n. 6, p. 905-912, 2006.

MORALES, G. et al. Antimicrobial activity of three *Baccharis* species used in the traditional medicine of Northern Chile. **Molecules**, v. 13, n. 4, p. 790-794, 2008.

MOREIRA, A. C. P. et al. Chemical composition and antifungal activity of *Hyptis suaveolens* (L. ) poit leaves essential oil against *Aspergillus* species. **Brazilian Journal Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 28-33, 2010.

Nunes, L.C.C et al. Variabilidade sazonal dos constituintes da própolis vermelha e bioatividade em *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2, p. 524-529, 2009.

PACKER, J. F.; LUZ, M. M. S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p.102-107, 2007.

PANWAR, S.; FAUJDAR, S. S. Prevalence, Distribution, Risk factors and Antifungal Susceptibility Profiles of *Candida* species in a Tertiary Care Hospital. **International Journal of Current Microbiology and a Applied Sciences**, v. 5, n. 4, p. 329–337, 2016.

PARÓLA, A. G. Estudo Epidemiológico de Candidíase Invasiva na Unidade de Cuidados Intensivos do Hospital Egas Moniz-Centro Hospitalar Lisboa Ocidental, 2010.

PICCINELLI, A.L. et al. Cuban and Brazilian red propolis: botanical origin and comparative analysis by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection/electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 5, p. 6484-6491, 2011.

PIGATTO, M. C.; UCHOA, F. D.; COSTA, T. D. Farmacocinética dos novos antifúngicos de uso sistêmico utilizados em pacientes imunocomprometidos. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 90, n. 1, p. 86-94, 2009.

PIPPI, B. et al. In vitro evaluation of the acquisition of resistance, antifungal activity and synergism of Brazilian red propolis with antifungal drugs on *Candida* spp. **Journal of Applied Microbiology**, v. 118, n. 4, p. 839-850, 2015.

PINTO, L. M. A.; PRADO, N. R. T.; CARVALHO, L. B. Propriedades, usos e aplicações da própolis. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 8 n. 3, p. 76 - 100, 2011.

POPOVA, M.P. et al. Chemical characteristics of poplar type propolis of different geographic origins. **Apidologie**, v. 38, n. 8, p. 306-311, 2010.

PORTILHO, D. R. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica da própolis produzida no estado do tocantins. **Revista científica do ITPAC**, Araguaína, v. 6, n. 2, 2013.

QUEIROZ, V.C.P.P. Avaliação do potencial antifúngico de própolis de *Apis mellifera* contra leveduras do gênero *Candida*. Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, São Paulo, 2010.

RASOOLI, I.; ABYANEH, M. R. Inhibitory effects of thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. **Food Control**, v. 15, n. 6, p. 479-483, 2004.

REN, B. et al. ABC transporters coupled with the elevated ergosterol contents contribute to the azole resistance and amphotericin B susceptibility. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 6, n. 98, p. 16-2609, 2014.

SÁ, M. C. N. et al. Isolamento de *Candida* no esfregaço cérvico-vaginal de mulheres não gestantes residentes em área ribeirinha do Estado do Maranhão, Brasil, 2012. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 5, n. 1, p. 25–34, 2014.

SANGLARD, D. et al. Calcineurin A of *Candida albicans*: involvement in antifungal tolerance, cell morphogenesis and virulence. **Molecular Microbiology**, v. 4, n. 48, p. 76-959, 2003.

SAWAYA, A.C. H. F. et al. Composition and antioxidant activity of propolis from three species of *Scaptotrigona* stingless bees. **Journal of ApiProducts and ApiMedical Science**, v. 1, n. 3, p. 37-42, 2009.

SCAZZOCCHIO, F. et al. Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. **Review of Microbiology**, v.4, p. 327-333, 2005.

SFORCIN, J. M.; BANKOVA, V. Propolis: is there a potential for the development of new drugs? **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, n. 4, p. 253-260, 2011.

SGARBI, L. S. Candidíase. **DST - Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v. 22, n. 1, p. 22-38. 2010.

SHARMA, S. et al. Sphingolipid Biosynthetic Pathway Genes FEN1 and SUR4 Modulate Amphotericin B Resistance. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 4, n. 58, p. 14-2409, 2014.

SHINOBU C. S. et al. Lack of association between genotypes and virulence factors in *C. albicans* strains isolated from vagina secretion. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 6, p. 467-471, 2007.

SILVA, B. B. et al. Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of Brazilian propolis. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 5, n. 3, p. 313-316, 2008.

SILVA, R. B. Candidemia em um hospital público do nordeste do brasil: características epidemiológicas e fatores de risco em pacientes críticos, 2017.

SIMÕES-AMBROSIO, L. M. C. et al. The role of seasonality on the inhibitory effect of Brazilian green propolis on the oxidative metabolism of neutrophils. **Fitoterapia**, v. 81, n. 4, p. 1102–1108, 2010.

SINGH, N. et al. Phytotherapy: a novel approach for treating periodontal disease. **Journal Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 6, n. 4, p. 205-210, 2016.

SIQUEIRA, A. B. S. et al. Antifungal activity of propolis against *Candida* species isolated from cases of chronic periodonitis. **Brazilian Oral Research**, v. 29, n. 1, p. 1-6, 2015.

SOUZA, E. L. et al. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. **Food Control**, v. 18 n. 5, p. 409–413, 2007.

TARAFDAR, P. K. 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride (TTC) as electron acceptor of culturable soil bacteria, fungi and actinomycetes. **Biology and Fertility of Soils**, v. 38, p. 186-189, 2003.

TIRASCHI I. N. et al. Brote de candidemia por *Candida albicans* em neonatología. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 24, n. 2, p. 263-267, 2007.

UZEL, A. et al. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian própolis samples. **Review Microbiology**, v. 160, p. 189-195, 2005.

VASCONCELOS, A. A. JR; MENEZES E. A; CUNHA, F. A. Chromogenic medium for direct susceptibility testing of *Candida* spp. Isolated from urine. **Mycopathologia**, v. 172, n. 2, p. 30-125, 2011.

VIEIRA, L. G. O uso de fitoterápicos e plantas medicinais por pacientes diabéticos. Brasília, 2017.

VIEIRA, C. A. et al. Estudo comparativo das espécies de *Candida*: sensibilidade antifúngica e genes de virulência. **Multítemas**, v. 23, n. 3, p. 169-182, 2018.

VINCENT, B. M. et al. Fitness trade-offs restrict the evolution of resistance to amphotericin B. **PLOS Biology**, v. 10, n. 11, p. 100-169, 2013.

WAGH, V. D. Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials. Advances in **Pharmacological Sciences**, v. 13, n. 1, p. 1-11, 2013.

ZAAS, A. K. Echinocandins: a wealth of choice.how clinically diferente are they? **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 21, n. 1, p. 426-432, 2008.

## ANEXO

## Comprovante de cadastro de acesso.



Ministério do Meio Ambiente  
**CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**  
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso  
 Cadastro nº A0D09C9

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: A0D09C9  
 Usuário: UFCG  
 CPF/CNPJ: 05.055.128/0001-76  
 Objeto do Acesso: Patrimônio Genético  
 Finalidade do Acesso: Pesquisa

**Espécie**

Candida albicans  
 Candida haemulonii  
 Candida famata

Título da Atividade: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE DOIS TIPOS DE PRÓPOLIS  
 CONTRA CEPAS DE CANDIDA DE ORIGEM CLÍNICA

**Equipe**

Egberto Santos Carmo UFCG

Data do Cadastro: 26/05/2019 09:28:08  
 Situação do Cadastro: Concluído



Conselho de Gestão do Patrimônio Genético  
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 9:30 de 26/05/2019.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO  
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO  
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL  
 ASSOCIADO - SISGEN