UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE

MANOEL RODRIGO ALVES DOS SANTOS

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE *Curatella americana* SOBRE ESPÉCIES DO GÊNERO *Candida*

LAGARTO-SE
2026

MANOEL RODRIGO ALVES DOS SANTOS

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE *Curatella americana* SOBRE ESPÉCIES DO GÊNERO *Candida*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde.

Orientador: Rafael Ciro Marques Cavalcante
Coorientador: James Almada da Silva

LAGARTO-SE
2026

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CAMPUS DE LAGARTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

S237a

Santos, Manoel Rodrigo Alves dos.
Atividade antifúngica de Curatella americana sobre espécies do gênero Candida / Manoel Rodrigo Alves dos Santos ; orientador Rafael Ciro Marques Cavalcante. – Lagarto, SE, 2026.
82 f. : il. color.

Dissertação (mestrado em Ciências Aplicadas à Saúde) – Universidade Federal de Sergipe, 2026.

1. Curatella americana L. 2. Candida tropicalis. 3. Atividade antifúngica. 4. Plantas medicinais. I. Cavalcante, Rafael Ciro Marques, orient. II. Título.

CDU 615.322

CRB-5/2192

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todas as maravilhas que têm me proporcionado, por guiar meus passos na direção correta e por colocar tantas pessoas especiais na minha vida.

Aos meus pais, Manoel Messias Alves dos Santos e Jovanda Evania dos Santos, por toda a dedicação. Por me apoiarem nos meus primeiros passos, pelo amor incondicional e, mesmo depois de adulto, continuarem participando das minhas decisões e compartilhando a realização dos meus sonhos. Serei eternamente grato por todos os sacrifícios feitos para minha formação pessoal e profissional, mesmo diante de tantas adversidades.

À minha irmã, Raquel, e aos meus amigos Carlla Chagas, Hildenia, Edicleide e Aglaude, pelo companheirismo e por todo apoio. Aos meus familiares — minha tia Edivania, Maria Aparecida e meu primo Marlon — pela força e presença.

À Universidade Federal de Sergipe (UFS), pela infraestrutura oferecida, especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde (PPGCAS) da UFS – Campus Lagarto. Em particular, ao Laboratório de Produtos Naturais Bioativos (LPNBio) e ao Laboratório de Biologia Molecular e Microbiologia (LaBMIC), do Departamento de Farmácia da UFS – Campus Lagarto, que me acolheram durante o mestrado e onde aprendi lições acadêmicas e pessoais que levarei para toda a vida.

Aos demais membros do Departamento de Farmácia, em especial aos técnicos Ana Márjory, Denis, Jean Nascimento, Rute Lisboa e Sidnei de Oliveira. Muito obrigado por todo o suporte e pela amizade; guardarei essa equipe com enorme carinho.

Aos pesquisadores da pós-graduação — Eduarda Costa, Dayara, Gustavo Souza, Ila Oliveira, Luiz Eduardo, Mariana da Cruz, Mariana Fraga, Meyre Nascimento, Ramon Lisboa, Rita de Cássia, Sabrina Romanne, Rafaela e Suzana Barreto — e aos pesquisadores da graduação — Alexia Sabrina, Anne Karoline, Cainnan Leal, Cassandra Oliveira, Cecília Carvalho, João Victor, Kauany Santos, Laura Carvalho, Maria Clara, Marta Miriam, Mayara Fonseca, Nathália Andrade, Rafael Xavier, Robson Rian, Suzane Costa, Thaslla Santos, Thassyla Barbosa, Wendel de Oliveira e Yan Gustavo. Obrigado a todos por me ajudarem na pesquisa, especialmente “quando era para fazer inóculo”. Minha gratidão é imensa.

À Profa. Dra. Gisele, por ser essa pessoa maravilhosa, prestativa e sempre disposta a ajudar.

Aos guardas e ao pessoal da limpeza, agradeço de coração — de forma voluntária e involuntária — por todo o apoio diário.

Por fim, aos meus orientadores — em especial ao Prof. Dr. Rafael Ciro Marques Cavalcante (coordenador do LaBMIC) — sou muito grato a Deus pela oportunidade de tê-los como guias nesta trajetória. Agradeço por me acompanharem, incentivarem e, acima de tudo, por não desistirem de mim e pela paciência demonstrada ao longo de todo o percurso.

Ao Prof. Dr. James Almada da Silva (coordenador do LPNBio), agradeço pelo auxílio, pela orientação e pelo incentivo contínuo ao longo da minha trajetória acadêmica.

A bancada do laboratório nos ensina que a precisão
não nasce do acaso, mas da insistência em
compreender cada detalhe do que nos desafia.

Autor desconhecido

RESUMO

Atividades antifúngica de *Curatella americana* sobre espécie do gênero *Candida*, Manoel Rodrigo Alves dos Santos, Lagarto, SE, 2026

Introdução: As infecções causadas por espécies do gênero *Candida* representam um importante problema de saúde, sobretudo pela capacidade desses microrganismos de formar biofilmes, estruturas associadas à maior tolerância aos antifúngicos e à persistência da infecção. Nesse contexto, *Curatella americana* L. destaca-se como fonte potencial de substâncias bioativas, embora as atividades antifúngica e antibiofilme de sua entrecasca ainda sejam pouco investigadas. **Objetivo:** Avaliar as atividades antifúngica e antibiofilme e a toxicidade preliminar de frações obtidas da entrecasca de *C. americana*. **Metodologia:** A entrecasca foi submetida à maceração em etanol a 95%, e o extrato obtido foi particionado em éter de petróleo, acetato de etila e água, originando as respectivas frações. As frações foram avaliadas frente a cepas de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *C. tropicalis*. A atividade antifúngica foi determinada por microdiluição em caldo, em concentrações de 16 a 1.024 µg/mL, com controle negativo (0 µg/mL). Para a avaliação antibiofilme, padronizaram-se as condições de formação do biofilme de cada cepa, comparando-se os meios BHI e SDB, este sem suplementação e com glicose a 1–5%. Em seguida, a biomassa foi quantificada por coloração com cristal violeta após o tratamento com as frações. A toxicidade preliminar foi avaliada em náuplios de *Artemia salina* (três réplicas de 10 náuplios por concentração, de 64 a 1.024 µg/mL), com registro da mortalidade em 24 e 48 horas e cálculo da concentração letal mediana (CL_{50}) por análise probit. Os dados de biomassa foram analisados por ANOVA seguida do teste de Tukey ($p < 0,05$). **Resultados e discussão:** Nas condições avaliadas, não foi possível determinar a concentração inibitória mínima (CIM) das frações. Entretanto, a fração de éter de petróleo reduziu o crescimento de *C. tropicalis* ATCC 750 nas concentrações de 512 e 1.024 µg/mL, caracterizando inibição parcial. Nos ensaios antibiofilme, as três frações reduziram significativamente a biomassa do biofilme de *C. tropicalis* ATCC 13803: a fração aquosa a partir de 16 µg/mL, e as frações de éter de petróleo e acetato de etila a partir de 32 µg/mL. Em *A. salina*, a mortalidade em 24 horas foi baixa (máximo de 16,7%), com CL_{50} superior a 1.024 µg/mL para as três frações. Após 48 horas, a mortalidade aumentou, e as CL_{50} foram de 302 µg/mL (IC 95%: 112–811) para a fração de éter de petróleo, 675 µg/mL (IC 95%: 412–1.106) para a aquosa e 1.544 µg/mL (IC 95%: 452–5.278), valor extrapolado, para a de acetato de etila. Valores de CL_{50} inferiores a 1.000 µg/mL são frequentemente associados à toxicidade nesse modelo, o que indica toxicidade preliminar das frações de éter de petróleo e aquosa. Como os intervalos de confiança se sobrepõem, não é possível afirmar diferença estatística entre as frações. **Conclusão:** A entrecasca de *C. americana* apresentou atividade antibiofilme frente a *C. tropicalis* ATCC 13803, sendo a fração aquosa eficaz na menor concentração. A atividade antifúngica foi limitada nas condições avaliadas, e as frações de éter de petróleo e aquosa mostraram toxicidade preliminar frente a *A. salina*. Estudos de caracterização química, de mecanismos de ação e de segurança biológica são necessários para identificar os constituintes responsáveis pelas atividades observadas e esclarecer o potencial de aplicação.

Descritores: *Curatella*; *Candida tropicalis*; Antifúngicos; Biofilmes; Toxicidade; *Artemia*; Plantas Medicinais.

ABSTRACT

Antifungal activity of *Curatella americana* against species of the genus *Candida*. Manoel Rodrigo Alves dos Santos, Lagarto, Sergipe, Brazil, 2026

Introduction: Infections caused by *Candida* species represent a major health problem, mainly because of the ability of these microorganisms to form biofilms, structures associated with greater tolerance to antifungal agents and with persistence of infection. In this context, *Curatella americana* L. stands out as a potential source of bioactive substances, although the antifungal and antibiofilm activities of its stem bark remain poorly investigated. **Objective:** To evaluate the antifungal and antibiofilm activities and the preliminary toxicity of fractions obtained from the stem bark of *C. americana*. **Methods:** The stem bark was macerated in 95% ethanol, and the resulting extract was partitioned into petroleum ether, ethyl acetate, and water, yielding the respective fractions. The fractions were tested against strains of *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, and *C. tropicalis*. Antifungal activity was determined by broth microdilution at concentrations of 16 to 1,024 μg/mL, with a negative control (0 μg/mL). For the antibiofilm assay, biofilm formation conditions were standardized for each strain by comparing BHI and SDB media, the latter without supplementation and with 1–5% glucose. Biomass was then quantified by crystal violet staining after treatment with the fractions. Preliminary toxicity was assessed in *Artemia salina* nauplii (three replicates of 10 nauplii per concentration, from 64 to 1,024 μg/mL), with mortality recorded at 24 and 48 hours and the median lethal concentration (LC_{50}) calculated by probit analysis. Biomass data were analyzed by ANOVA followed by Tukey's test ($p < 0.05$). **Results and discussion:** Under the conditions evaluated, the minimum inhibitory concentration (MIC) of the fractions could not be determined. However, the petroleum ether fraction reduced the growth of *C. tropicalis* ATCC 750 at concentrations of 512 and 1,024 μg/mL, characterizing partial inhibition. In the antibiofilm assays, all three fractions significantly reduced the biofilm biomass of *C. tropicalis* ATCC 13803: the aqueous fraction from 16 μg/mL, and the petroleum ether and ethyl acetate fractions from 32 μg/mL. In *A. salina*, mortality at 24 hours was low (maximum of 16.7%), with LC_{50} above 1,024 μg/mL for all three fractions. After 48 hours, mortality increased, and the LC_{50} values were 302 μg/mL (95% CI: 112–811) for the petroleum ether fraction, 675 μg/mL (95% CI: 412–1,106) for the aqueous fraction, and 1,544 μg/mL (95% CI: 452–5,278), an extrapolated value, for the ethyl acetate fraction. LC_{50} values below 1,000 μg/mL are often associated with toxicity in this model, indicating preliminary toxicity of the petroleum ether and aqueous fractions. Because the confidence intervals overlap, a statistical difference among the fractions cannot be asserted. **Conclusion:** The stem bark of *C. americana* showed antibiofilm activity against *C. tropicalis* ATCC 13803, with the aqueous fraction being effective at the lowest concentration. Antifungal activity was limited under the conditions evaluated, and the petroleum ether and aqueous fractions showed preliminary toxicity toward *A. salina*. Studies on chemical characterization, mechanisms of action, and biological safety are needed to identify the constituents responsible for the observed activities and to clarify their application potential.

Keywords: *Curatella*; *Candida tropicalis*; Antifungal Agents; Biofilms; Toxicity; *Artemia*; Plants, Medicinal.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Morfologia das colônias de diferentes espécies de *Candida* spp. cultivadas em ágar Sabouraud: (A) *C. albicans*; (B) *C. krusei*; (C) *C. parapsilosis*; e (D) *C. tropicalis*. 10

Figura 2 - Estágios do desenvolvimento de um biofilme. 15

Figura 3 - Mecanismos de ação dos agentes antifúngicos sobre diferentes alvos celulares de *Candida* spp. 17

Figura 4 - Aspectos morfológicos de *C. americana* L. e processo de coleta do material vegetal em Boa Vista – RR. 23

Figura 5 - Ilustração da microdiluição em caldo em placa de 96 poços. 31

Figura 6 - Representação esquemática do procedimento de atividade antibiofilme. 33

Figura 7 - Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) das frações de *Curatella americana* L. — (A) éter de petróleo, (B) acetato de etila e (C) extrato aquoso — frente a *C. albicans* ATCC 90028 (linha superior) e *C. albicans* ATCC 90029 (linha inferior), pelo método de microdiluição em caldo. 36

Figura 8 - Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) das frações de Curatella americana L. — (A) Éter de Petróleo, (B) Acetato de Etila e (C) Extrato Aquoso — contra *C. parapsilosis* ATCC 22019 (linha superior) e *C. Krusei* ATCC 6258 (linha inferior), pelo método de microdiluição em caldo. 39

Figura 9 - Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) das frações de *Curatella americana* L. — (A) Éter de Petróleo, (B) Acetato de Etila e (C) Extrato Aquoso — contra *C. tropicalis* ATCC 13803 (linha superior) e ATCC 750 (linha inferior), pelo método de microdiluição em caldo. 42

Figura 10 – Avaliação da formação de biofilme de *Candida* spp. em diferentes meios de cultivo. Cepas de *C. albicans*: ATCC 64129 (A), ATCC 10231 (B), ATCC 44858 (C), ATCC 90028 (D) e ATCC 90029 (E). 45

Figura 11 - Avaliação da formação de biofilme de *Candida* spp. não-*albicans* em diferentes meios de cultivo. Cepas de *C. parapsilosis*: ATCC 22019 (A) e ATCC 90018 (B); *C. krusei* ATCC 6258 (C); e *C. tropicalis*: ATCC 750 (D) e ATCC 13803 (E). 48

Figura 12 - Determinação da atividade antibiofilme das frações de *Curatella americana* L. — (A) Éter de Petróleo, (B) Acetato de Etila e (C) Extrato Aquoso — contra *Candida tropicalis* ATCC 13803 por meio do ensaio com cristal violeta em placas de 96 poços. 51

Figura 13 - Avaliação da toxicidade aguda em náuplios de *Artemia salina* frente às frações de éter de petróleo (A), acetato de etila (B) e aquosa (C) do extrato de *C. americana* L. após 24 horas (superior) e 48 horas (inferior) de exposição. 54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABs	Absorbância
AmB	Anfotericina B
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	American Type Culture Collection
BHI	Brain Heart Infusion
C. albicans	*Candida albicans*
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CN	Controle negativo
CP	Controle positivo
DPR	Desvio Padrão Relativo
DNA	*Deoxyribonucleic acid* (ácido desoxirribonucleico)
DMSO	Dimetilsulfóxido
DO	Densidade Óptica
LaBMIC	Laboratório de Biologia Molecular e Microbiologia
LPNBio	Laboratório de Produtos Naturais Bioativos
MIC	Minimum Inhibitory Concentration
MEC	Matriz Extracelular
PLL	Partição líquido-líquido
PICS	Práticas Integrativas e Complementares em Saúde
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares
PBS	*Phosphate-buffered saline* (tampão fosfato-salino)
Spp.	Espécies
SDA	Ágar Sabouraud Dextrose (*Sabouraud Dextrose Agar*)
SDB	Caldo Sabouraud Dextrose (*Sabouraud Dextrose Broth*)
SF	Suspensão fúngica
SisGen	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 6
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 8
2.1. Candidíase 8
2.1.1. Gênero *Candida* 9
2.1.2. Biofilmes de *Candida* 14
2.1.3. Agentes Antifúngicos 16
2.2. Plantas Medicinais 21
2.3. *Curatella americana* L. 22
2.3.1. Constituintes fitoquímicos 24
3. OBJETIVOS 26
3.1. Objetivo Geral 26
3.2. Objetivos Específicos 26
4. METODOLOGIA 27
4.1. TIPO DE ESTUDO 27
4.2. ENSAIOS DE TEOR QUÍMICO 27
4.2.1. Coleta de amostras 27
4.2.2. Obtenção e fracionamento do extrato da *Curatella americana* L. 27
4.3. ENSAIOS DE ATIVIDADE BIOLÓGICA 29
4.3.1. Meios de Cultura 29
4.3.2. Cepas fúngicas 29
4.3.3. Condições de cultivo e padronização do inóculo 29
4.3.4. Condições de formação de biofilme em *Candida* spp. 29
4.3.5. Determinação da concentração inibitória mínima 31
4.3.6. Atividade antibiofilme 32
4.4. Toxicidade frente a *Artemia salina* 33
4.4.1. Condições do pré-ensaio e cultivo 33
4.4.2. Condições do ensaio 34

4.4.3. Validação e expressão dos resultados.....34
4.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....35
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 36
5.1. Rendimento do extrato 36
5.2. Atividade antifúngica frente a *Candida* spp. 36
5.3. Avaliação da capacidade de formação de biofilme *in vitro*.....43
5.4. Atividade antibiofilme.....49
5.5. Toxicidade em *Artemia salina*.....53
6. CONCLUSÃO.....57
PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS.....58
REFERÊNCIAS 59

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Candida* é reconhecido como um importante agente etiológico de infecções fúngicas em humanos, principalmente em indivíduos imunocomprometidos ou submetidos a condições clínicas que favorecem o desenvolvimento de infecções oportunistas (Macias-Paz *et al.*, 2023). As manifestações clínicas podem variar desde infecções superficiais, como candidíase oral e vulvovaginal, até infecções invasivas associadas à elevada morbimortalidade, especialmente em pacientes hospitalizados, mesmo diante da utilização de terapias antifúngicas convencionais (Kullberg *et al.*, 2015; Vieira *et al.*, 2018; Lima *et al.*, 2017).

Do ponto de vista epidemiológico, *C. albicans* permanece como a espécie mais prevalente associada à candidemia na América do Sul. Entretanto, observa-se uma participação relevante das espécies não-*albicans*, cuja distribuição pode variar de acordo com a região geográfica. No Nordeste do Brasil, foram observadas prevalências de 35,3% para *C. albicans*, 27,4% para *C. tropicalis*, 21,6% para *C. parapsilosis* e 11,8% para *C. glabrata*. No Norte do Brasil, *C. albicans* apresentou frequência de 44%, seguida por *C. glabrata* e *C. tropicalis*, ambas com 19%, e *C. parapsilosis*, com 14% (Riera *et al.*, 2022).

Em conjunto, esses dados evidenciam a variabilidade na distribuição das espécies de *Candida* entre diferentes regiões da América do Sul e reforçam a relevância clínica das espécies não-*albicans*, especialmente *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*. Além disso, a ocorrência de *C. glabrata* em diferentes regiões merece destaque devido à sua importância clínica e às diferenças de suscetibilidade aos agentes antifúngicos (Riera *et al.*, 2022).

Apesar da disponibilidade de agentes antifúngicos pertencentes a diferentes classes terapêuticas, o aumento da resistência fúngica constitui um dos principais desafios no controle das infecções causadas por espécies do gênero *Candida*, incluindo *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*, estimulando a busca por novas estratégias para o controle dessas infecções (Vila *et al.*, 2020). Entre os fatores associados à persistência dessas infecções, destaca-se a capacidade de formação de biofilmes, estruturas microbianas organizadas constituídas por células aderidas a superfícies bióticas ou abióticas e envolvidas por uma matriz extracelular produzida pelo próprio microrganismo (Faria-Gonçalves *et al.*, 2021).

A matriz extracelular dos biofilmes é constituída por diferentes componentes, incluindo polissacarídeos, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos extracelulares, que contribuem para a proteção das células fúngicas diante de condições ambientais adversas (Nobile; Johnson, 2023). A formação do biofilme envolve diferentes etapas, incluindo adesão inicial, agregação, maturação e dispersão, possibilitando a colonização de tecidos, dispositivos médicos e outras

superfícies (Pierce *et al.*, 2017). Essa organização estrutural pode reduzir a ação dos antifúngicos, favorecer a persistência das células fúngicas e contribuir para a recorrência das infecções causadas por espécies do gênero *Candida* (Lopes *et al.*, 2022).

Nesse contexto, os produtos naturais têm despertado interesse como fontes de moléculas bioativas capazes de atuar sobre diferentes etapas do processo infeccioso. Extratos vegetais e seus metabólitos secundários apresentam potencial antimicrobiano, incluindo atividades antifúngica e antibiofilme (Azevedo *et al.*, 2015). Além disso, estudos têm demonstrado que compostos derivados de plantas podem atuar isoladamente ou em associação com antifúngicos convencionais, favorecendo a investigação de novas abordagens para o controle das infecções por *Candida* (Carneiro *et al.*, 2020; Gonçalves *et al.*, 2018; Oliveira *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2014).

Entre as espécies vegetais de interesse destaca-se *C. americana* L., pertencente à família Dilleniaceae e conhecida popularmente por diferentes denominações, como “cajueiro-bravo”, “sambaíba”, “caimbé”, “lixeira”, “cajueiro-do-mato”, “craibeira” e “penteeira”. A espécie apresenta ampla distribuição em diferentes biomas brasileiros, incluindo Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica e Caatinga (Alexandre-Moreira *et al.*, 1999; Dalmolin *et al.*, 2015; De Menezes, 2019). Estudos fitoquímicos demonstram a presença de diferentes classes de metabólitos secundários em seus tecidos vegetais, incluindo terpenos e flavonoides, compostos associados a diversas atividades biológicas, entre elas efeitos antimicrobianos e antioxidantes (Coutinho *et al.*, 2021; Rocha *et al.*, 2021).

Embora estudos anteriores tenham investigado diferentes propriedades biológicas de *C. americana*, principalmente a partir de extratos obtidos de folhas e da casca do caule, informações relacionadas especificamente ao potencial biológico da entrecasca ainda são limitadas. Essa lacuna justifica a investigação dessa porção vegetal, uma vez que diferenças na composição e na distribuição de metabólitos entre os tecidos vegetais podem resultar em diferentes propriedades biológicas. Dessa forma, o estudo da entrecasca pode contribuir para ampliar o conhecimento sobre o potencial biológico de *C. americana* e possibilitar a identificação de frações com atividade antifúngica e/ou antibiofilme frente a espécies do gênero *Candida*.

Diante das características químicas e do potencial biológico descritos para *C. americana*, associados à necessidade de novas alternativas para o controle de infecções causadas por *Candida*, parte-se da hipótese de que as entrecascas dessa espécie apresentem atividade antifúngica e/ou antibiofilme frente a espécies do gênero *Candida*.

Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar as atividades antifúngica e antibiofilme de frações obtidas da entrecasca de *C. americana* L. frente a espécies do gênero *Candida*, bem como sua toxicidade frente a *Artemia salina*. A investigação dessas atividades busca ampliar o conhecimento sobre o potencial biológico da entrecasca de *C. americana* e fornecer subsídios para estudos posteriores voltados à caracterização e identificação de metabólitos associados às atividades observadas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Candidíase

O gênero *Candida* compreende fungos que fazem parte da microbiota comensal de indivíduos saudáveis, podendo colonizar diferentes sítios do organismo, incluindo a pele e as mucosas, sem necessariamente causar doença (Lohse *et al.*, 2018). Essa relação é mantida por mecanismos de equilíbrio entre o microrganismo, a microbiota residente e o sistema imunológico do hospedeiro (Pereira *et al.*, 2018). Entretanto, alterações nas condições locais ou sistêmicas podem romper esse equilíbrio, favorecendo a proliferação de *Candida* e o desenvolvimento de infecções denominadas candidíases (Martins *et al.*, 2019).

A candidíase oral constitui uma das manifestações mais frequentes da infecção por *Candida* em mucosas. As manifestações clínicas podem variar de acordo com a forma clínica e as condições do hospedeiro, incluindo ardência, dor, alteração do paladar e desconforto durante a alimentação (Radunovic *et al.*, 2022; Pristov; Ghannoum, 2019). Em casos mais graves, particularmente em pacientes imunocomprometidos, a infecção pode estender-se para a orofaringe e o esôfago, podendo ocasionar odinofagia, caracterizada por dor durante a deglutição, e disfagia, caracterizada por dificuldade para engolir, comprometendo a ingestão alimentar (Pappas *et al.*, 2016). Clinicamente, a candidíase oral pode apresentar-se, entre outras formas, como pseudomembranosa, caracterizada pela presença de placas esbranquiçadas removíveis, ou eritematosa, caracterizada por áreas de eritema e atrofia da mucosa (Martins *et al.*, 2019).

Diversos fatores de risco estão associados ao desenvolvimento da candidíase. Entre os fatores locais, destacam-se alterações da mucosa, higiene oral inadequada e uso de próteses dentárias, que podem favorecer a colonização e a proliferação de *Candida* (Lopes; Lionakis, 2022). Entre os fatores sistêmicos, destacam-se o uso de medicamentos imunossupressores, incluindo corticosteroides, o uso de antibióticos de amplo espectro, o diabetes mellitus descompensado, as deficiências nutricionais, as neoplasias e a infecção pelo HIV, condições que podem comprometer a resposta imunológica ou alterar o equilíbrio da microbiota, favorecendo a proliferação de *Candida* (Nugraha *et al.*, 2018). A redução do fluxo salivar, observada em condições como a síndrome de Sjögren e durante determinados tratamentos oncológicos, também pode aumentar a suscetibilidade à infecção ao comprometer mecanismos de defesa e limpeza mecânica proporcionados pela saliva (Braecher *et al.*, 2019).

No contexto clínico, *C. albicans* é a espécie mais frequentemente associada às candidíases de mucosa. Entretanto, outras espécies, denominadas *Candida* não-*albicans*,

também podem estar envolvidas, incluindo *C. glabrata, C. tropicalis* e *C. krusei*, especialmente em indivíduos imunocomprometidos ou submetidos a tratamentos que favorecem a ocorrência de infecções oportunistas (Nugraha *et al.*, 2018). A participação dessas espécies possui relevância clínica, uma vez que apresentam diferentes perfis de suscetibilidade aos antifúngicos e podem estar associadas a dificuldades terapêuticas (Keane *et al.*, 2018).

Entre as espécies não-*albicans*, *C. glabrata* merece destaque por apresentar, em determinadas cepas, menor suscetibilidade aos azóis, particularmente ao fluconazol, podendo ocorrer resistência adquirida durante ou após a exposição ao antifúngico (Sousa *et al.*, 2020). Dessa forma, a identificação da espécie e a avaliação do perfil de suscetibilidade podem ser importantes para a escolha da estratégia terapêutica, especialmente em pacientes com fatores de risco para infecções persistentes ou recorrentes e contribuir para perda de peso e desnutrição (Millsop *et al.*, 2016; Orlandini *et al.*, 2020).

Embora a candidíase mucosa possa responder satisfatoriamente ao tratamento antifúngico em muitos casos, determinados fatores podem dificultar o manejo clínico, incluindo recorrência, condições subjacentes do hospedeiro, interações medicamentosas e redução da suscetibilidade aos antifúngicos (Radunovic *et al.*, 2022). A ocorrência de resistência antifúngica, particularmente entre algumas espécies de *Candida* não-*albicans*, reforça a importância da identificação microbiológica e da avaliação individualizada das opções terapêuticas (Das; Devarajan, 2020; Keane *et al.*, 2018).

Além da resistência aos antifúngicos, outro fator de relevância na persistência das infecções por *Candida* é a capacidade de formação de biofilmes (Squitieri *et al.,* 2026). O biofilme corresponde a uma comunidade microbiana estruturada, aderida a uma superfície e envolta por uma matriz extracelular produzida pelos próprios microrganismos (Faria-Gonçalves *et al.,* 2021).

Em *Candida*, esse processo envolve etapas de adesão inicial, formação e maturação da comunidade microbiana, podendo resultar em alterações fenotípicas que favorecem a persistência do microrganismo e a redução da suscetibilidade aos agentes antifúngicos (Bhattacharya; Sae-Tia; Fries, 2020). Dessa forma, a capacidade de formação de biofilme constitui um importante fator relacionado à persistência das infecções por *Candida* e representa um alvo relevante para a investigação de novas estratégias terapêuticas.

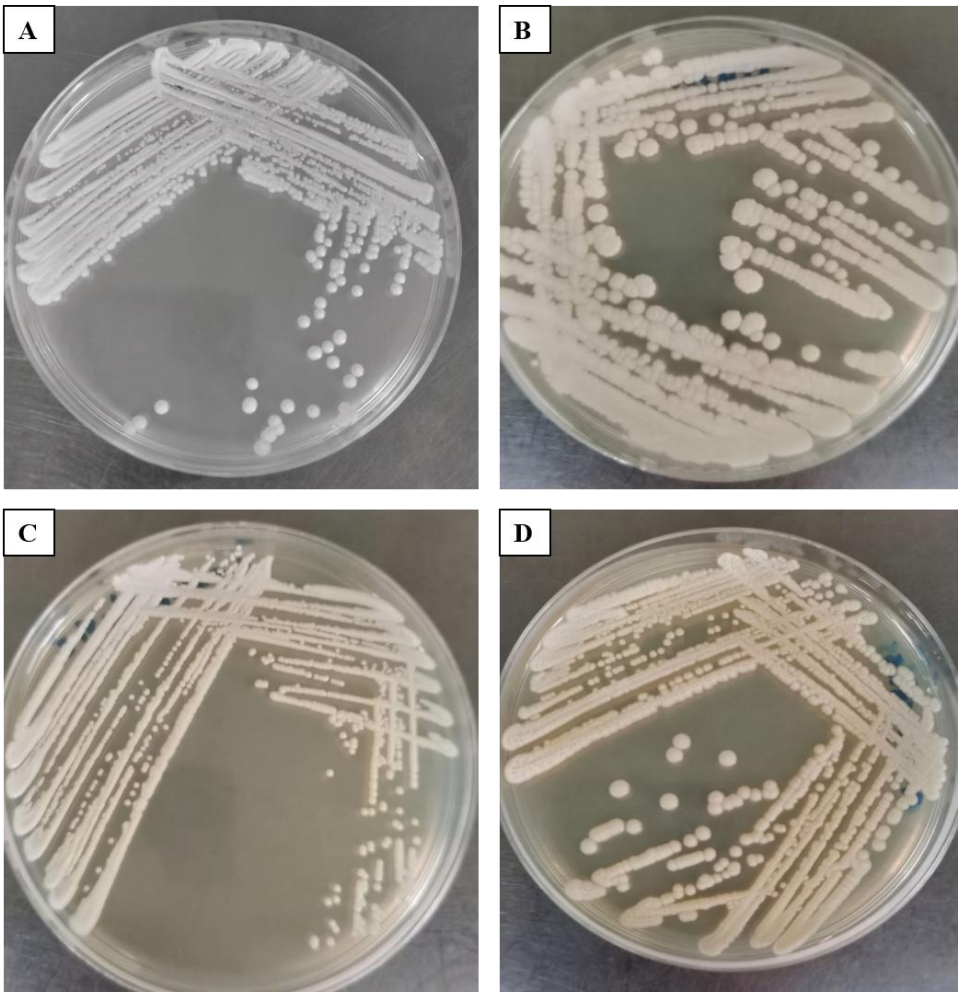
2.1.1. Gênero *Candida*

O gênero *Candida* compreende fungos leveduriformes pertencentes ao filo Ascomycota, classe Saccharomycetes e ordem Saccharomycetales (Levetin *et al.*, 2016). Esses

microrganismos reproduzem-se predominantemente de forma assexuada por brotamento e apresentam elevada plasticidade morfológica, podendo, sob determinadas condições ambientais, desenvolver estruturas filamentosas, como pseudohifas e hifas verdadeiras, além de clamidósporos em algumas espécies (Almeida, 2013; Barbedo; Sgarbi, 2010). As espécies do gênero podem ser encontradas em diferentes nichos ecológicos e, embora muitas apresentem comportamento comensal, algumas são importantes patógenos oportunistas de seres humanos (Giolo; Svidzinski, 2010).

Entre as espécies de maior relevância clínica encontram-se *C. albicans, C. tropicalis, C. parapsilosis* e *C. krusei*, avaliadas no presente estudo na (Figura 1). Essas espécies apresentam diferentes características relacionadas à virulência, à adesão celular, à formação de biofilmes e à suscetibilidade aos agentes antifúngicos (Pinho; Miranda; Costa-de-Oliveira, 2024).

Figura 1 - Morfologia das colônias de diferentes espécies de *Candida* spp. cultivadas em ágar Sabouraud: (A) *C. albicans*; (B) *C. krusei*; (C) *C. parapsilosis*; e (D) *C. tropicalis*.



Fonte: Elaboração própria (2026).

Tais características contribuem para a diversidade das manifestações clínicas associadas ao gênero e apresentam particular importância em indivíduos imunocomprometidos ou com outras condições predisponentes (Kidd; Abdolrasouli; Hagen, 2023). A taxonomia do gênero *Candida* passou por importantes revisões fundamentadas em análises filogenéticas e dados genômicos. Como consequência dessas atualizações, algumas espécies tradicionalmente classificadas no gênero foram transferidas para outros gêneros.

Entre essas mudanças, destaca-se *C. krusei*, atualmente denominada *Pichia kudriavzevii*, enquanto *C. glabrata* foi reclassificada como *Nakaseomyces glabratus* (Pappas *et al*., 2016; Kidd *et al.*, 2023). Considerando, entretanto, a ampla utilização das denominações tradicionais na literatura clínica e biomédica, a nomenclatura tradicional será mantida neste trabalho, especialmente para facilitar a comparação com estudos anteriores e a identificação das cepas utilizadas nos experimentos (Bing *et al.*, 2024).

C. albicans é uma das espécies mais estudadas do gênero devido à sua capacidade de atuar tanto como microrganismo comensal quanto como patógeno oportunista. A espécie pertence ao clado Lodderomyces e apresenta elevado grau de plasticidade morfológica, sendo capaz de alternar entre diferentes formas durante os processos de colonização e infecção (Min; Park, 2025). Essa plasticidade inclui a transição entre a forma leveduriforme e formas filamentosas, como pseudohifas e hifas verdadeiras, característica associada à adaptação às condições encontradas no hospedeiro e à expressão de mecanismos relacionados à virulência (Kidd; Abdolrasouli; Hagen, 2023).

Além da capacidade de transição morfológica, *C. albicans* apresenta diversos fatores associados à patogenicidade, incluindo adesão às células do hospedeiro e a superfícies abióticas, formação de biofilmes, produção de enzimas hidrolíticas e mecanismos de adaptação a diferentes condições ambientais (Vávrová *et al*., 2025). Essas características contribuem para a capacidade de colonização de diferentes sítios anatômicos e, em determinadas condições, para o desenvolvimento de infecções invasivas (Mathé; Van Dijck, 2013).

C. parapsilosis apresenta colônias que, quando cultivadas em meios de cultura como ágar Sabouraud, geralmente são de coloração branca a creme, com aspecto liso, brilhante e de consistência cremosa (Figura 1) (Arastehfar *et al.*, 2020). Microscopicamente, as células apresentam formato ovalado ou alongado, com reprodução predominantemente por brotamento, podendo ocorrer formação de pseudohifas, característica que contribui para a identificação morfológica da espécie. A morfologia colonial e celular pode, entretanto, apresentar variações de acordo com as condições de cultivo e as características do isolado (Branco; Miranda; Rodrigues, 2023).

C. parapsilosis pertence ao complexo *C. parapsilosis*, grupo filogenético constituído por três espécies estreitamente relacionadas: *C. parapsilosis, C. orthopsilosis* e *C. metapsilosis* (Takashima; Sugita, 2022). *C. parapsilosis* apresenta capacidade de formação de pseudohifas e expressa diferentes fatores associados à virulência, incluindo a produção de proteinases, lipases e fosfolipases, além da capacidade de aderir a superfícies e formar biofilmes (Arastehfar *et al.*, 2020; Branco; Miranda; Rodrigues, 2023).

Embora apresente, em geral, menor potencial de virulência quando comparada a *C. albicans*, *C. parapsilosis* possui importante relevância clínica, particularmente em ambientes hospitalares, onde está associada a infecções invasivas em pacientes vulneráveis. Sua capacidade de colonizar superfícies e dispositivos médicos e formar biofilmes pode favorecer a persistência do microrganismo e contribuir para sua disseminação no ambiente hospitalar (Silva *et al.*, 2021).

A espécie apresenta particular importância em unidades de terapia intensiva neonatal, nas quais pode colonizar e infectar recém-nascidos prematuros e de muito baixo peso. Nessa população, *C. parapsilosis* está entre os agentes associados às infecções fúngicas invasivas, podendo contribuir para o aumento da morbidade e da mortalidade neonatal (Cook *et al.*, 2023). Dessa forma, a capacidade de adesão e formação de biofilme constitui uma característica relevante para a compreensão da persistência e do potencial patogênico dessa espécie (Ferreras-Antolin; Chowdhary; Warris, 2025).

Candida krusei, atualmente denominada *Pichia kudriavzevii*, pertence ao clado Pichia e apresenta importante relevância clínica em razão de suas características de virulência e de seu perfil de suscetibilidade aos antifúngicos (Carneiro *et al*., 2026). A espécie apresenta resistência intrínseca ao fluconazol, característica que limita a utilização desse fármaco no tratamento de infecções causadas por esse microrganismo (Stavrou, 2019).

As infecções causadas por essa espécie apresentam maior relevância em indivíduos imunocomprometidos ou com outras condições clínicas predisponentes, podendo ocorrer na forma de candidemia e outras infecções invasivas (Ricardo *et al.*, 2020). A resistência intrínseca ao fluconazol e a possibilidade de ocorrência de resistência a outros antifúngicos tornam o tratamento dessas infecções um desafio, especialmente em pacientes vulneráveis (Khalifa *et al.*, 2022; Nguyen *et al.*, 2024).

Nesse contexto, a capacidade de formação de biofilme, associada à menor suscetibilidade a determinados antifúngicos, torna *C. krusei* uma espécie de interesse para a investigação de novas estratégias antifúngicas e antibiofilme (Carneiro *et al.*, 2026). O tratamento das candidíases depende da localização e da gravidade da infecção, da espécie

envolvida, das condições clínicas do paciente e do perfil de suscetibilidade do microrganismo. Entre os principais grupos de antifúngicos utilizados no tratamento das infecções por *Candida* estão os azóis, os polienos e as equinocandinas, além de outros agentes empregados em situações específicas (Halliday *et al.*, 2026). A escolha terapêutica deve considerar o tipo de infecção, a espécie envolvida e as características clínicas do paciente (Bhattacharya; Sae-Tia; Fries, 2020).

Apesar da disponibilidade de diferentes opções terapêuticas, a resistência aos antifúngicos constitui um desafio crescente (Gurajala; Challapilla, 2026). Esse fenômeno pode ocorrer de forma intrínseca ou adquirida e está associado a diferentes mecanismos celulares e moleculares, incluindo alterações nas proteínas-alvo dos fármacos, modificações na composição da membrana celular, aumento da expressão de bombas de efluxo e outros mecanismos de adaptação (Czajka *et al.*, 2023; Paiva *et al.*, 2023).

As espécies não-*albicans* apresentam particular importância nesse contexto, uma vez que algumas podem apresentar perfis de suscetibilidade distintos daqueles observados em *C. albicans*. *C. krusei*, por exemplo, apresenta resistência intrínseca ao fluconazol, enquanto outras espécies podem desenvolver resistência adquirida durante a exposição aos antifúngicos. (Nguyen *et al.,* 2024; Alabi *et al.,* 2023). Essas características reforçam a importância da identificação adequada do agente etiológico e, quando indicada, da avaliação de sua suscetibilidade aos antifúngicos (Gurajala; Challapilla, 2026).

Além da resistência aos antifúngicos, a formação de biofilmes constitui um fator que pode comprometer a resposta terapêutica. Os microrganismos organizados em biofilmes apresentam alterações fisiológicas e metabólicas e permanecem envolvidos por uma matriz extracelular, condições que podem aumentar a tolerância aos agentes antifúngicos e dificultar a erradicação da infecção (Bhattacharya; Sae-Tia; Fries, 2020). A capacidade de aderir a superfícies, formar biofilmes e persistir nessas estruturas apresenta, portanto, relevância para a patogênese e para o manejo das infecções por *Candida* (Nobile; Johnson, 2023).

Nesse contexto, torna-se relevante a investigação de novas substâncias capazes de atuar sobre diferentes etapas do processo infeccioso, incluindo a adesão, a formação e o desenvolvimento dos biofilmes (Mathé; Van Dijck, 2013). A busca por compostos com atividade antifúngica e antibiofilme pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias complementares destinadas ao controle de infecções causadas por espécies de *Candida*, especialmente diante das limitações associadas à resistência aos antifúngicos convencionais (Faleye *et al.*, 2025).

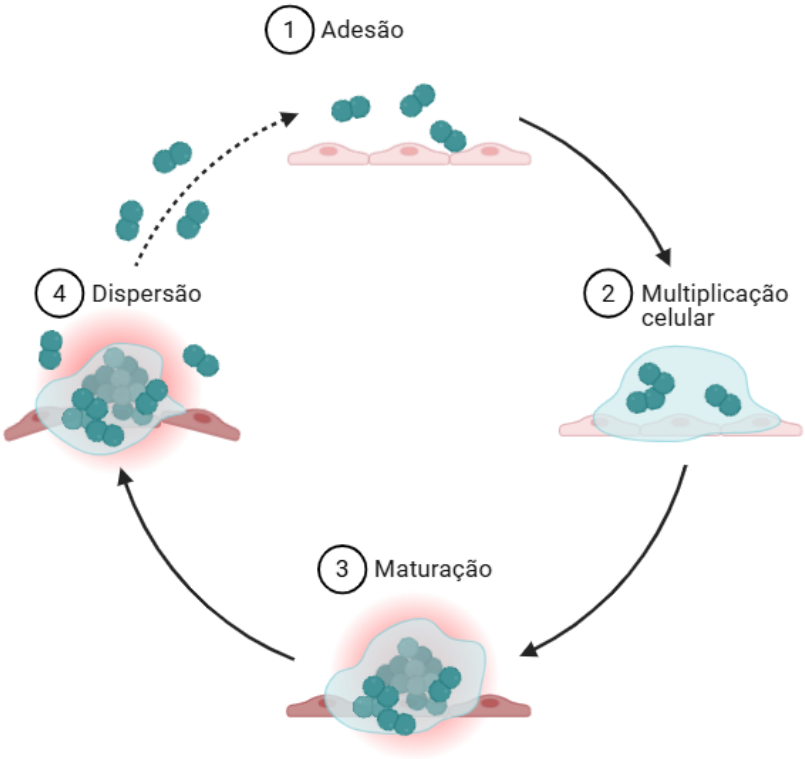
2.1.2. Biofilmes de *Candida*

Os biofilmes são comunidades microbianas organizadas e imersas em uma matriz extracelular (MEC), composta predominantemente por polissacarídeos e glicoproteínas, que se aderem a superfícies bióticas ou abióticas (Faria-Gonçalves *et al.,* 2021). Embora possam colonizar superfícies abióticas — como cateteres, próteses, dentaduras e outros dispositivos médicos — e representar um risco significativo para infecções graves, biofilmes também se formam em superfícies bióticas, incluindo mucosas, dentes, trato urinário e sistema respiratório (Vieira *et al.,* 2017; Gao *et al.,* 2024; Vávrová *et al*., 2025).

A formação de biofilmes está diretamente associada à elevada resistência microbiana, sendo um dos principais fatores que contribuem para a morbimortalidade relacionada a infecções hospitalares (Lopes; Lionakis, 2022; Massey; Zarnowski; Andes, 2023). A MEC é constituída por substâncias poliméricas secretadas pelas células, incluindo proteínas (55%), carboidratos (25%), lipídios (15%) e ácidos nucleicos (5%) (Silva *et al.,* 2019). Nos biofilmes de *C. albicans*, o polissacarídeo predominante é o manano, frequentemente associado a β-1,6-glucanos, que são alvos de diversas terapias antifúngicas (Pierce *et al.,* 2017; Ponde *et al.,* 2021).

A presença da MEC é essencial para a arquitetura e estabilidade do biofilme, fornecendo suporte físico e contribuindo para a tolerância aos antifúngicos. Embora a MEC não seja o único fator de resistência, ela dificulta a penetração dos fármacos e protege as células internas, favorecendo a persistência da infecção (Nobile; Johnson, 2023; Karygianni *et al.,* 2020; Pierce *et al.,* 2017). A formação do biofilme ocorre em quatro etapas, conforme ilustrado a seguir na imagem 2:

Figura 2 - Estágios do desenvolvimento de um biofilme.



Nota: O processo de formação do biofilme inicia-se pela adesão das células ao substrato (1), seguida pela proliferação celular e diferenciação morfológica, com formação de estruturas semelhantes a hifas (2). Posteriormente, ocorre o acúmulo de material polissacarídico extracelular e a maturação do biofilme (3), culminando na dispersão de células para novos locais (4). Fonte: Elaboração própria, criada com o auxílio da plataforma BioRender.com (2026).

A primeira etapa corresponde à adesão das células planctônicas ao substrato, que pode ser de natureza biótica ou abiótica. Inicialmente, as células aderem à superfície por meio de interações físico-químicas e, posteriormente, por mecanismos de adesão mais específicos, estabelecendo uma camada inicial de células aderidas, predominantemente blastóporos, nas primeiras horas de desenvolvimento do biofilme, entre 0 e 11 horas. Essa adesão constitui o primeiro passo para a formação e o estabelecimento do biofilme.

Na segunda etapa, após a adesão inicial das células à superfície, ocorre a proliferação celular e a diferenciação morfológica em hifas e/ou pseudo-hifas, acompanhadas do início da produção da matriz extracelular (MEC), entre 12 e 30 horas. A terceira etapa corresponde ao desenvolvimento do biofilme maduro, caracterizado pela intensa produção de MEC e pela formação de uma estrutura tridimensional composta por células e filamentos que interligam e estabilizam o biofilme.

Por fim, na fase de dispersão, células se desprendem da estrutura do biofilme e podem colonizar novos locais, contribuindo para a disseminação do microrganismo (Nobile; Johnson, 2023; Márton; Nagy; Molnár, 2023). Além da barreira física proporcionada pela MEC, a tolerância dos biofilmes de Candida spp. aos antifúngicos está associada a diferentes mecanismos, incluindo a elevada expressão de bombas de efluxo, alterações na composição da membrana celular e a presença de esteróis, que podem contribuir para a redução da suscetibilidade aos antifúngicos durante o desenvolvimento do biofilme (Faleye *et al.,* 2025; Vávrová *et al.,* 2025).

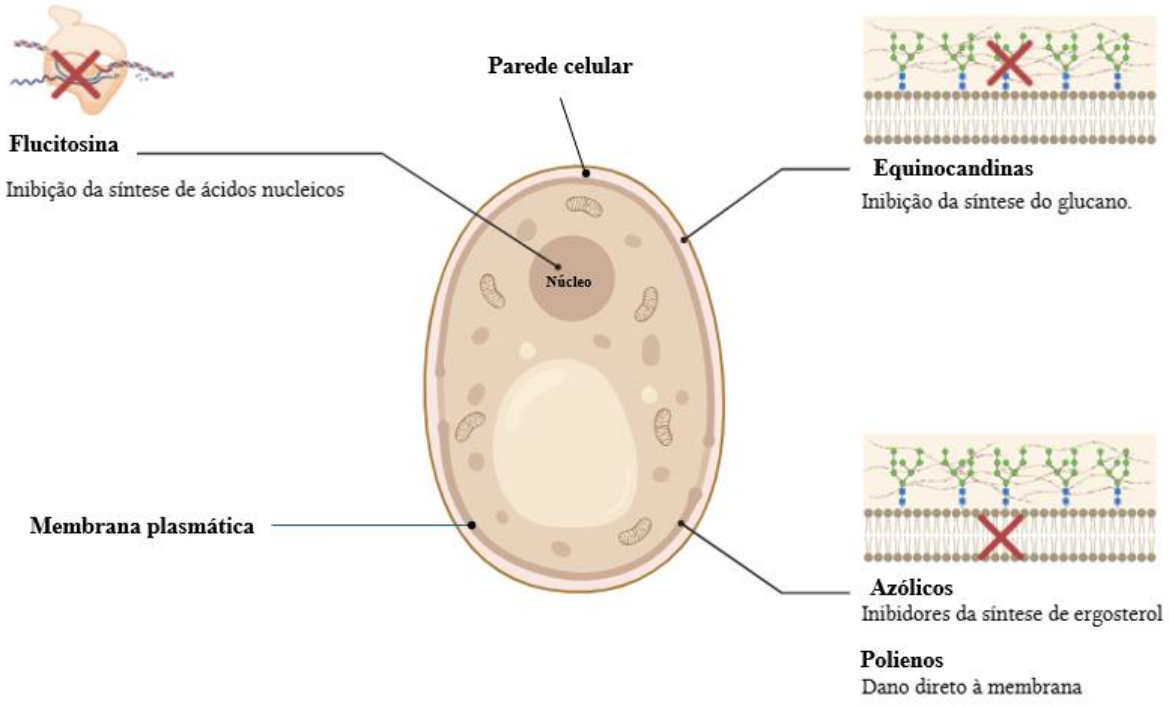
2.1.3. Agentes Antifúngicos

O tratamento das infecções causadas por *Candida* depende da espécie envolvida, do sítio anatômico acometido, da gravidade da infecção, das condições clínicas do paciente e do perfil de suscetibilidade do microrganismo (Haghani *et al.,* 2026). Apesar da disponibilidade de diferentes agentes antifúngicos, as opções terapêuticas permanecem relativamente limitadas quando comparadas à diversidade de agentes antibacterianos (Lionakis; Netea, 2013).

Essa limitação, associada ao aumento da resistência antifúngica e à capacidade de determinadas espécies de persistirem em ambientes hospitalares, representa um importante desafio para o manejo das infecções fúngicas invasivas (Fisher *et al.,* 2022). A Organização Mundial da Saúde reconheceu a relevância desse problema ao estabelecer uma lista de patógenos fúngicos prioritários, destacando a necessidade de ampliar a vigilância, a pesquisa e o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos (WHO, 2022).

Entre as principais classes de antifúngicos utilizados no tratamento das infecções por *Candida* destacam-se os poliênicos, os azólicos, as equinocandinas e os análogos de pirimidina, representados pela 5-fluorocitosina (Figura 3). Esses grupos apresentam diferentes mecanismos de ação e alvos celulares, permitindo interferir na membrana plasmática, na parede celular ou em processos essenciais do metabolismo e da síntese de ácidos nucleicos do fungo (Czajka *et al.*, 2023; Perfect, 2017).

Figura 3 - Mecanismos de ação dos agentes antifúngicos sobre diferentes alvos celulares de *Candida* spp.



Fonte: Elaboração própria, criada com o auxílio da plataforma BioRender.com (2026).

A escolha do antifúngico deve ser individualizada de acordo com o tipo de infecção e, particularmente nas infecções invasivas, com os resultados da identificação da espécie e dos testes de suscetibilidade (Haghani *et al.,* 2026). As equinocandinas, por exemplo, constituem atualmente uma das principais opções para o tratamento inicial da candidíase invasiva, enquanto o fluconazol pode ser empregado em situações específicas quando o isolado apresenta suscetibilidade ao fármaco (Pappas *et al.*, 2016).

Os poliênicos, representados principalmente pela anfotericina B, apresentam amplo espectro de atividade e permanecem importantes no tratamento de infecções fúngicas graves. Seu principal mecanismo de ação está relacionado à interação com o ergosterol presente na membrana celular dos fungos, promovendo alterações na integridade e na permeabilidade da membrana e levando à perda de componentes celulares essenciais (Hamill, 2013).

A anfotericina B também pode desencadear alterações oxidativas que contribuem para sua atividade antifúngica (Perfect, 2017; Revie *et al.*, 2018). Apesar de sua eficácia, o uso da anfotericina B é limitado por efeitos adversos, especialmente nefrotoxicidade. Nesse contexto, formulações lipídicas e lipossomais foram desenvolvidas com o objetivo de melhorar o perfil

de segurança do fármaco, reduzindo sua toxicidade renal e mantendo sua atividade antifúngica (Carolus *et al.,* 2020).

A resistência aos poliênicos é menos frequente do que a resistência observada aos azólicos em diversas espécies de *Candida*, mas pode ocorrer por alterações na biossíntese ou na composição do ergosterol da membrana. Modificações na quantidade ou estrutura desse esterol podem reduzir a interação entre o antifúngico e seu principal alvo celular, comprometendo sua atividade (Czajka *et al.*, 2023). Assim, embora a anfotericina B continue sendo uma alternativa importante, sua toxicidade e a possibilidade de resistência reforçam a necessidade de estratégias terapêuticas complementares (Hassan *et al.*, 2021).

Os azólicos constituem uma das classes mais utilizadas no tratamento das candidíases. Entre os principais representantes encontram-se fluconazol, itraconazol, voriconazol e posaconazol. Esses fármacos interferem na biossíntese do ergosterol por meio da inibição da enzima lanosterol 14-alfa-desmetilase, codificada pelo gene *ERG11*, comprometendo a composição e a função da membrana celular fúngica. O fluconazol possui ampla utilização clínica devido à sua disponibilidade, atividade contra diversas espécies de *Candida* e características farmacocinéticas favoráveis (Alabi *et al.,* 2023).

A emergência de mecanismos de resistência aos azólicos evidencia que a escolha terapêutica das candidíases não deve considerar apenas a atividade intrínseca dos antifúngicos, mas também o perfil de suscetibilidade da espécie envolvida e a possibilidade de desenvolvimento de resistência durante o tratamento (Weil *et al.*, 2017; Kaur *et al.*, 2023).

Nesse contexto, torna-se necessária a utilização de classes com mecanismos de ação distintos, capazes de contornar alterações relacionadas à biossíntese do ergosterol. Entre essas alternativas, destacam-se as equinocandinas, cuja ação ocorre sobre a parede celular fúngica, constituindo uma importante opção terapêutica para o tratamento das candidíases invasivas e, particularmente, para infecções causadas por isolados com menor suscetibilidade aos azólicos (Pappas *et al.,* 2016; Fisher *et al.,* 2022).

As equinocandinas, representadas por caspofungina, micafungina e anidulafungina, atuam sobre a parede celular fúngica por meio da inibição da síntese de β-1,3-D-glucana, componente estrutural essencial para a manutenção da integridade da célula. A redução da síntese desse polissacarídeo compromete a parede celular e pode resultar em lise e morte do microrganismo (Dantas *et al.,* 2025). Por apresentarem um mecanismo de ação distinto daquele dos azólicos e dos poliênicos, as equinocandinas desempenham papel importante no tratamento das candidíases invasivas e são frequentemente utilizadas como terapia inicial nesses casos (Pappas *et al.*, 2016).

Apesar de sua importância clínica, a resistência às equinocandinas pode ocorrer, principalmente por alterações nos genes *FKS1* e *FKS2*, que codificam componentes do complexo enzimático responsável pela síntese de β-1,3-D-glucana. Essas alterações podem reduzir a afinidade do alvo pelo antifúngico e favorecer a sobrevivência do microrganismo durante a exposição ao medicamento (Dantas *et al.,* 2025). Além disso, mecanismos compensatórios, como o aumento da síntese de quitina, podem contribuir para a adaptação da célula fúngica diante da inibição da síntese de glucana. A emergência de resistência às equinocandinas é particularmente preocupante porque essa classe representa uma das principais opções terapêuticas para candidíase invasiva (Walker *et al.*, 2022).

A 5-fluorocitosina (5-FC) é outro antifúngico de importância clínica, embora seu uso seja mais restrito. Trata-se de um análogo de pirimidina que, após sua entrada na célula fúngica e conversão em metabólitos ativos, interfere na síntese de RNA e DNA, comprometendo processos essenciais para o crescimento e a multiplicação celular (Perfect, 2017). Devido à rápida seleção de resistência quando utilizada isoladamente, a 5-FC é geralmente empregada em associação com outros antifúngicos, particularmente com a anfotericina B em determinadas infecções invasivas. Dessa forma, seu uso ilustra a importância das terapias combinadas na redução da seleção de resistência e no aumento da eficácia em situações clínicas específicas (Delma *et al.*, 2021).

A resistência antifúngica constitui, portanto, um fenômeno multifatorial que pode resultar de alterações no alvo do fármaco, modificações das vias metabólicas, aumento da expressão de bombas de efluxo, alterações na composição da membrana celular e mecanismos de adaptação ao estresse provocado pelo antifúngico (Bhattacharya; Sae-Tia; Fries, 2020). A utilização inadequada ou prolongada desses medicamentos também pode exercer pressão seletiva, favorecendo a sobrevivência e a disseminação de populações menos suscetíveis. A resistência não representa apenas uma limitação individual do tratamento, mas também um problema de saúde pública, especialmente diante da circulação de espécies capazes de disseminar-se em ambientes hospitalares (Czajka *et al.*, 2023).

A relação entre biofilmes e resistência ou tolerância aos antifúngicos possui particular relevância em infecções relacionadas a cateteres, próteses e outros dispositivos médicos. Em determinadas situações, o controle da infecção pode exigir a remoção do dispositivo associado, especialmente quando o tratamento farmacológico isolado não é suficiente (Mathé; Van Dijck, 2013). As equinocandinas e formulações lipídicas da anfotericina B apresentam atividade contra biofilmes de *Candida*, mas a resposta pode variar de acordo com a espécie, o estágio de desenvolvimento do biofilme e as características da matriz extracelular, assim, a formação de

biofilme representa uma barreira adicional à eficácia dos antifúngicos convencionais (Pereira *et al.*, 2021).

Diante desse cenário, a pesquisa antifúngica tem avançado na busca por moléculas com novos mecanismos de ação, novas formulações e estratégias terapêuticas capazes de superar mecanismos de resistência (Arana *et al.,* 2026). Entre os agentes em desenvolvimento ou investigação encontram-se moléculas direcionadas a alvos diferentes daqueles explorados pelos antifúngicos tradicionais (Kiss *et al.,* 2023).

O fosmanogepix, por exemplo, atua por meio da inibição da proteína Gwt1, interferindo em processos relacionados à biossíntese e à ancoragem de proteínas na parede celular. Outros agentes, como ibrexafungerp e rezafungina, representam estratégias de ampliação ou modificação de mecanismos já explorados, com potencial aplicação frente a infecções causadas por espécies resistentes (Li *et al.,* 2025). A existência de casos resistentes às principais classes terapêuticas reforça a importância desse processo de inovação (Alabi *et al.,* 2023).

Paralelamente ao desenvolvimento de novos antifúngicos sintéticos, os produtos naturais têm recebido atenção como fontes de moléculas bioativas (Kiss *et al.,* 2023). A diversidade química dos vegetais resulta da presença de diferentes classes de metabólitos secundários, incluindo compostos fenólicos, flavonoides, taninos, terpenos, saponinas e alcaloides, muitos dos quais apresentam atividades antimicrobianas descritas na literatura (Fik-Jaskółka *et al.,* 2024). A complexidade química dos extratos vegetais também pode possibilitar a atuação simultânea sobre diferentes alvos celulares, constituindo uma estratégia potencialmente relevante diante de microrganismos que apresentam múltiplos mecanismos de resistência (Nunes *et al.,* 2020)

A investigação de substâncias de origem vegetal com atividade antifúngica e antibiofilme tem, portanto, importância não apenas pela possibilidade de identificação de novos compostos, mas também pela busca de moléculas capazes de interferir em diferentes etapas do processo infeccioso, incluindo adesão celular, formação e maturação do biofilme e manutenção da integridade da célula fúngica (Roy; Gow, 2023). Estudos recentes demonstram o interesse crescente em produtos vegetais e seus constituintes como fontes potenciais de agentes antifúngicos, inclusive para o controle de microrganismos resistentes e de estruturas biofilmes (Vakili-Ghartavol; Arouiee, 2025; Faleye *et al.*, 2025).

Nesse contexto, *C. americana* L. apresenta-se como uma espécie de interesse devido à diversidade de metabólitos secundários previamente identificados em seus diferentes órgãos vegetais e às atividades biológicas descritas para seus extratos (Toledo *et al.,* 2011). A presença de compostos fenólicos, flavonoides, taninos, terpenos e outras classes de metabólitos fornece

uma base química que justifica a investigação de seu potencial antimicrobiano (Verdía Barbará *et al.,* 2025). Entretanto, embora existam estudos relacionados às folhas e à casca do caule, ainda são limitadas as informações referentes especificamente à composição química e ao potencial biológico da entrecasca (Broda, 2020).

Dessa forma, considerando as limitações relacionadas à toxicidade dos antifúngicos, às interações medicamentosas, ao surgimento de resistência e à capacidade de formação de biofilmes por espécies de *Candida*, a investigação de fontes naturais de compostos bioativos constitui uma estratégia relevante (Mendes *et al.,* 2026).

2.2. Plantas Medicinais

O uso de plantas medicinais tem sido uma prática terapêutica amplamente adotada desde tempos ancestrais, persistindo até os dias atuais em diversas regiões do mundo, especialmente onde o acesso à medicina convencional é limitado (Maciel *et al.,* 2002). No Brasil, essa tradição remonta às práticas indígenas, posteriormente incorporadas ao conhecimento médico europeu, resultando em um sincretismo de saberes populares e científicos que contribuíram para a formação da medicina tradicional brasileira (Gasparetto, 2014; Oliveira; Costa, 2018).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), planta medicinal é todo vegetal que contenha substâncias ou classes de compostos bioativos responsáveis por ação terapêutica ou profilática, podendo ser utilizado de forma bruta ou em preparações farmacêuticas (Brasil, 2009). A Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece que aproximadamente 80% da população mundial faz uso de recursos naturais para suprir suas necessidades primárias de saúde e estima que metade da população global ainda não dispõe de acesso adequado aos serviços médicos e farmacológicos, o que reforça a importância das plantas medicinais como alternativa terapêutica acessível e culturalmente enraizada (Brasil, 2010; Who, 2022).

No contexto brasileiro, o uso de plantas medicinais foi institucionalizado por meio das Práticas Integrativas e Complementares em Saúde (PICS), implementadas pelo Ministério da Saúde a partir da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), criada pela Portaria nº 971/2006. Essa política reconhece e incentiva o uso racional e seguro de terapias tradicionais, como fitoterapia, acupuntura, homeopatia e outras abordagens complementares, no Sistema Único de Saúde (SUS) (Brasil, 2006). A inclusão das plantas medicinais e da fitoterapia entre as PICS busca valorizar o conhecimento tradicional, promover o uso

sustentável da biodiversidade e ampliar o acesso da população a recursos terapêuticos de baixo custo e comprovada eficácia (Barros *et al.,* 2018).

As plantas medicinais constituem fontes valiosas de metabólitos secundários — como flavonoides, terpenos, alcaloides, saponinas e taninos — que desempenham papel essencial na defesa vegetal contra estresses bióticos e abióticos, e apresentam amplo espectro de atividades biológicas, incluindo ações antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória e antifúngica (Priyanka *et al*., 2026) O interesse científico por esses compostos tem crescido significativamente nas últimas décadas, principalmente devido ao aumento da resistência microbiana aos medicamentos convencionais e à necessidade de novas moléculas bioativas de origem natural (Dos Reis *et al.,* 2019; Zhang *et al.,* 2021).

Nos últimos anos, o avanço da fitoterapia e sua integração à medicina baseada em evidências têm atraído crescente atenção da comunidade científica. A identificação, o isolamento e a caracterização de compostos bioativos de origem vegetal têm contribuído para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos, com maior segurança, menor custo e menor impacto ambiental, reforçando o potencial das plantas medicinais como recursos estratégicos na busca por alternativas farmacológicas sustentáveis (Shereen *et al.,* 2024; Almeida, 2011; Santos *et al.,* 2023). Essa perspectiva reforça a importância de investigações sobre espécies nativas, como *C. americana* L., amplamente utilizada na medicina tradicional brasileira e reconhecida por seu potencial terapêutico.

2.3. *Curatella americana* L.

O gênero *Curatella* é representado no Brasil exclusivamente pela espécie *C. americana* L., uma árvore característica das savanas brasileiras e amplamente distribuída na América Latina, incluindo México, Bolívia e Amazônia (Duarte *et al.,* 2011; Castro *et al.,* 2024). A espécie *C. americana* L. apresenta características morfológicas que podem ser observadas na Figura 4. A planta pertence à família *Dilleniaceae* e é conhecida por sua resistência a solos secos e pobres em nutrientes. Popularmente, recebe diversos nomes, como "cajueiro-bravo", "sambaíba", "caimbé", "lixeira", "cajueiro-do-mato", "craibeira" e "penteeira", refletindo sua ampla distribuição geográfica e importância cultural nas regiões do Cerrado brasileiro (Alexandre-Moreira *et al.,* 1999).

Figura 4 - Aspectos morfológicos de *C. americana* L. e processo de coleta do material vegetal em Boa Vista – RR.



Nota: (A) Detalhe foliar evidenciando a margem e textura coriácea característica da espécie; (B) Tronco com ritidoma espesso e detalhe do corte de extração; (C) Remoção artesanal das entrecascas para processamento extrativo. Fonte: Elaboração própria (2021).

Com altura média de 12 metros, possui folhas ovaladas e ásperas — resultado do acúmulo de sílica na superfície — e uma casca espessa que se desprende em lâminas finas, características que favorecem sua adaptação a ambientes com alta exposição solar e baixa umidade (Melo *et al.,* 1998; Canuto, 2011). A morfologia característica da espécie pode ser observada na Figura 4, onde se destacam suas folhas e casca típica (Carvalho, 2018).

A *C. americana* é amplamente empregada na medicina popular em suas diversas formas de uso, sobretudo como analgésico e anti-inflamatório (Hiruma-Lima *et al.,* 2009). As partes mais utilizadas incluem cascas, entrecascas e folhas, geralmente preparadas na forma de chás e infusões (Toledo *et al.,* 2011). A infusão de folhas e talos é tradicionalmente indicada para o tratamento de artrite, diabetes e hipertensão. Além dessas aplicações, estudos científicos têm demonstrado que a espécie apresenta atividades anti-hipertensivas e vasodilatadoras (Guerrero *et al*., 2002), reforçando seu expressivo interesse farmacológico e seu uso consolidado na medicina tradicional (Hiruma-Lima *et al.,* 2009).

2.3.1. Constituintes fitoquímicos

A prospecção fitoquímica de *C. americana* L. demonstra a presença de diferentes classes de metabólitos secundários, os quais têm sido associados às diversas atividades biológicas descritas para a espécie (Alexandre-Moreira *et al.*, 1999). Entretanto, os estudos disponíveis concentram-se principalmente na investigação das folhas e da casca do caule, enquanto informações referentes especificamente à composição fitoquímica da entrecasca ainda são limitadas.

Em estudo realizado com folhas de *C. americana*, Barbosa (2011) identificou, no extrato obtido em diclorometano, a presença de flavonoides, agliconas antraquinônicas, triterpenos, esteroides e taninos. De forma complementar, Henriques e Almeida (2013), ao avaliarem o extrato bruto etanólico das folhas, detectaram fenóis, taninos, açúcares redutores, saponinas, depsídeos, depsidonas, esteroides, triterpenoides e alcaloides, evidenciando a diversidade de classes de metabólitos secundários presentes nesse órgão vegetal.

Em relação à casca do caule, Toledo *et al.* (2015) identificaram flavonoides, terpenos, compostos fenólicos, saponinas e esteroides, corroborando a ocorrência de diferentes classes de metabólitos secundários na espécie. Posteriormente, Dos Santos *et al.* (2022) demonstraram elevado teor de compostos fenólicos totais na casca, com destaque para os taninos, além de concentrações expressivas de flavonoides. Esses achados reforçam a relevância da casca de *C. americana* como fonte de compostos fenólicos potencialmente bioativos (Costa *et al.*, 2008; Toledo *et al.*, 2015).

Os metabólitos identificados em *C. americana* apresentam reconhecida relevância biológica. Compostos fenólicos e flavonoides têm sido amplamente associados à atividade antioxidante e a diferentes efeitos farmacológicos, incluindo propriedades anti-inflamatórias e antimicrobianas (Dos Santos *et al.*, 2017; Kowalski *et al.*, 2020; Santos; Rodrigues, 2017).

Os taninos apresentam propriedades adstringentes, cicatrizantes, antimicrobianas e antioxidantes, enquanto os terpenos podem apresentar atividades anti-inflamatórias e antimicrobianas (Coutinho *et al.*, 2021; Dos Santos *et al.*, 2022). Além disso, saponinas, alcaloides, esteroides e triterpenoides têm sido associados a diferentes atividades biológicas, contribuindo para o interesse farmacológico relacionado às espécies vegetais que apresentam essas classes de metabólitos (Alexandre-Moreira *et al.*, 1999; Guerrero *et al.*, 2002; Hiruma-Lima *et al.*, 2009; Toledo *et al.*, 2015).

A presença desses metabólitos também apresenta relevância no contexto das infecções fúngicas, uma vez que diferentes classes de compostos naturais, especialmente fenólicos, flavonoides e terpenos, têm sido associadas à capacidade de interferir no crescimento microbiano e em processos relacionados à formação e desenvolvimento de biofilmes (Carneiro *et al.*, 2020; Santos; Rodrigues, 2017; Costa *et al.*, 2021). Dessa forma, o perfil fitoquímico de *C. americana* constitui um importante aspecto a ser investigado para compreender as propriedades biológicas da espécie frente a microrganismos potencialmente patogênicos (Toledo *et al.*, 2015).

Apesar dos avanços na caracterização fitoquímica das folhas e da casca do caule de *C. americana* L., ainda são limitadas as informações sobre a composição química e o potencial biológico da entrecasca. Essa lacuna é relevante, considerando que diferenças anatômicas e fisiológicas entre os tecidos vegetais podem influenciar a distribuição e a concentração de metabólitos secundários (Li *et al.*, 2020). A caracterização da entrecasca pode contribuir para a identificação de classes de compostos potencialmente bioativos e para a compreensão de sua possível relação com atividades antifúngica e antibiofilme (Hasan *et al.*, 2026; Supriyadi *et al.*, 2025).

Nesse contexto, a investigação de produtos de origem vegetal com essas propriedades apresenta relevância diante da necessidade de ampliar as alternativas para o controle de espécies de *Candida*, especialmente aquelas capazes de persistir por meio da formação de biofilmes e apresentar menor suscetibilidade aos antifúngicos convencionais (Vakili-Ghartavol; Arouiee, 2025).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar as atividades antifúngicas e antibiofilme das entrecascas de *C. americana* (L.). contra cepas do gênero *Candida.*

3.2. Objetivos Específicos

- Obter diferentes frações a partir do extrato etanólico da entrecasca de *C. americana* L.;
- Avaliar a atividade antifúngica das frações obtidas frente às cepas de *Candida* spp. (*C. albicans*; *C. parapsilosis*; *C. krusei* e *C. tropicalis*), por meio dos ensaios de microdiluição em caldo;
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) das frações frente às cepas de *Candida* spp. (*C. albicans*; *C. parapsilosis*; *C. krusei* e *C. tropicalis*);
- Avaliar a atividade antibiofilme das frações sobre biofilmes de *Candida* spp. (*C. albicans*; *C. parapsilosis*; *C. krusei* e *C. tropicalis*);
- Avaliar a toxicidade das frações obtidas frente a *Artemia salina*.

4. METODOLOGIA

4.1. TIPO DE ESTUDO

Esta pesquisa é de natureza exploratória, experimental quantitativa, que se propõe a avaliar o efeito biológico antimicrobiano de constituintes extraídos das entrecascas de *C. americana* (L.). frente cepas do gênero *Candida*.

4.2. ENSAIOS DE TEOR QUÍMICO

4.2.1. Coleta de amostras

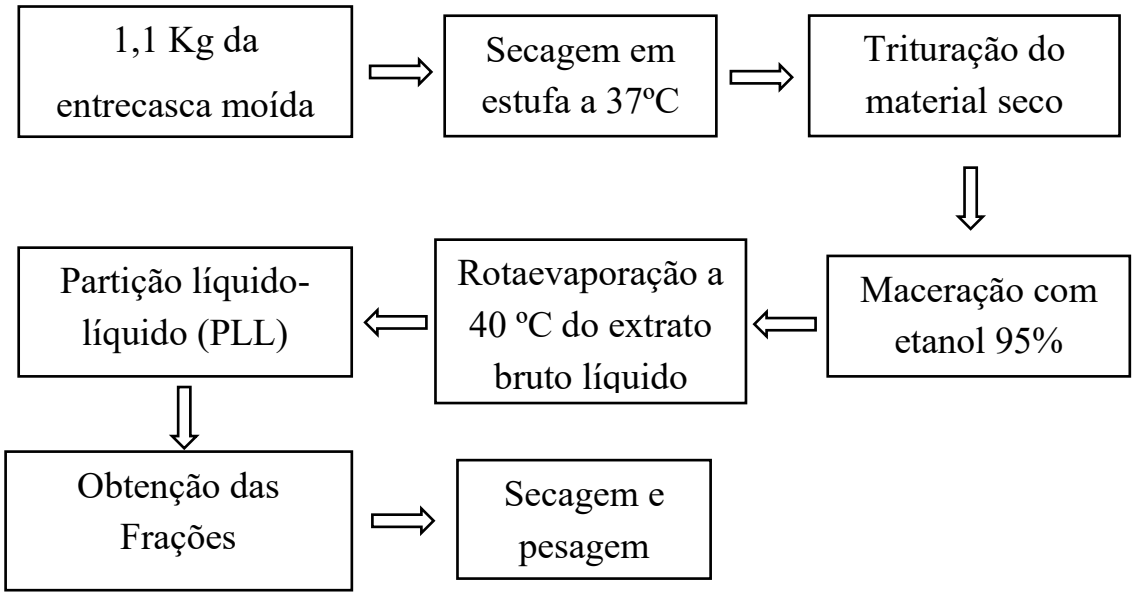
As entrecascas de *C. americana* L. foram coletadas no povoado Vicinal Urubuzinho no município Boa Vista/RR (Latitude**:** 2.776842; Longitude**:** -60.87695) no bioma da Floresta Amazônica em período correspondente à estação chuvosa. A coleta do material vegetal foi realizada em 15 de maio de 2021, pelo coorientador Prof. Dr. James Almada da Silva. Em seguida, exsicata do espécime vegetal foi cadastrada no SisGen com o código AFF8BAD, devidamente identificada e depositada no Herbário da Universidade Federal de Sergipe (ASE/UFS), sob o registro de voucher nº ASE 42746.

O material foi processado no Laboratório de Produtos Naturais Bioativos (LPNBio) da Universidade Federal de Sergipe – Campus Professor Antônio Garcia Filho, Lagarto-SE. As entrecascas foram secas em estufa à 37 ºC, armazenadas e, posteriormente, moídas em liquidificador industrial e submetidas a solventes no processo de extração por maceração.

4.2.2. Obtenção e fracionamento do extrato da *Curatella americana* L.

O extrato foi obtido por meio da técnica de maceração, com renovação do solvente extrator, utilizando-se uma razão de 1:3 (m/v) entre o material vegetal e o solvente. Foi utilizada a entrecasca previamente seca e moída, tendo como solvente extrator etanol a 95%. O processo de maceração foi conduzido durante seis dias, com renovação do solvente a cada dois dias. Ao final do período de extração, o extrato bruto líquido foi filtrado e submetido à rotaevaporação a 40 °C para remoção do solvente (Figura 3).

Figura 3 – Esquema de preparo de extratos da entrecasca de *Curatella americana* (L.).



Fonte: Elaboração própria (2026).

O extrato bruto, em volume de 500 mL, foi submetido ao processo de partição líquido-líquido (PLL), com o objetivo de promover a separação dos constituintes químicos de acordo com suas diferentes afinidades pelos solventes empregados. Inicialmente, foram adicionados 166,67 mL de éter de petróleo ao extrato bruto, utilizando-se um funil de separação. A mistura foi submetida à agitação e, posteriormente, mantida em repouso até a formação de fases distintas. Após a separação das fases, a fração correspondente ao éter de petróleo foi coletada, enquanto a fase remanescente foi submetida à etapa seguinte de partição. Posteriormente, foi adicionado acetato de etila à fase, utilizando-se o mesmo procedimento de agitação, repouso e separação das fases.

Ao final do processo, foram obtidas as frações correspondentes ao éter de petróleo, ao acetato de etila e à fase aquosa. As frações obtidas foram coletadas individualmente e acondicionadas em recipientes previamente identificados. Para auxiliar nas etapas de separação, transferência e armazenamento, foram utilizados funil de separação, béqueres, frascos Erlenmeyer e balão volumétrico. Posteriormente, as frações foram submetidas à rotaevaporação para remoção dos respectivos solventes. Após a eliminação dos solventes, as frações foram mantidas em capela de exaustão até a completa secagem e, posteriormente, pesadas em balança analítica para determinação da massa obtida.

4.3. ENSAIOS DE ATIVIDADE BIOLÓGICA

4.3.1. Meios de Cultura

Para os ensaios de atividade antifúngica, foram utilizados o Ágar Sabouraud Dextrose (*Sabouraud Dextrose Agar* – SDA) e o Caldo Sabouraud Dextrose (*Sabouraud Dextrose Broth* – SDB), meios de cultura amplamente empregados para o crescimento e manutenção de leveduras. O caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) foi utilizado para o cultivo das cepas durante a etapa de preparo do inóculo.

4.3.2. Cepas fúngicas

Foram utilizadas dez cepas do gênero *Candida*, sendo cinco cepas de *C. albicans* (ATCC 90029, ATCC 90028, ATCC 44858, ATCC 10231 e ATCC 64129) e cinco cepas pertencentes a espécies não-*albicans*: *C. tropicalis* (ATCC 13803 e ATCC 750), *C. krusei* (ATCC 6258) e *C. parapsilosis* (ATCC 22019 e ATCC 90018). As cepas foram obtidas da coleção de culturas microbianas do Laboratório de Biologia Molecular e Microbiologia (LaBMic), localizado no Campus Lagarto da Universidade Federal de Sergipe (UFS). A solução estoque dos microrganismos foram preparadas, devidamente identificadas e armazenadas a −80 °C em meio contendo glicerol, visando à preservação da viabilidade das leveduras para os ensaios subsequentes.

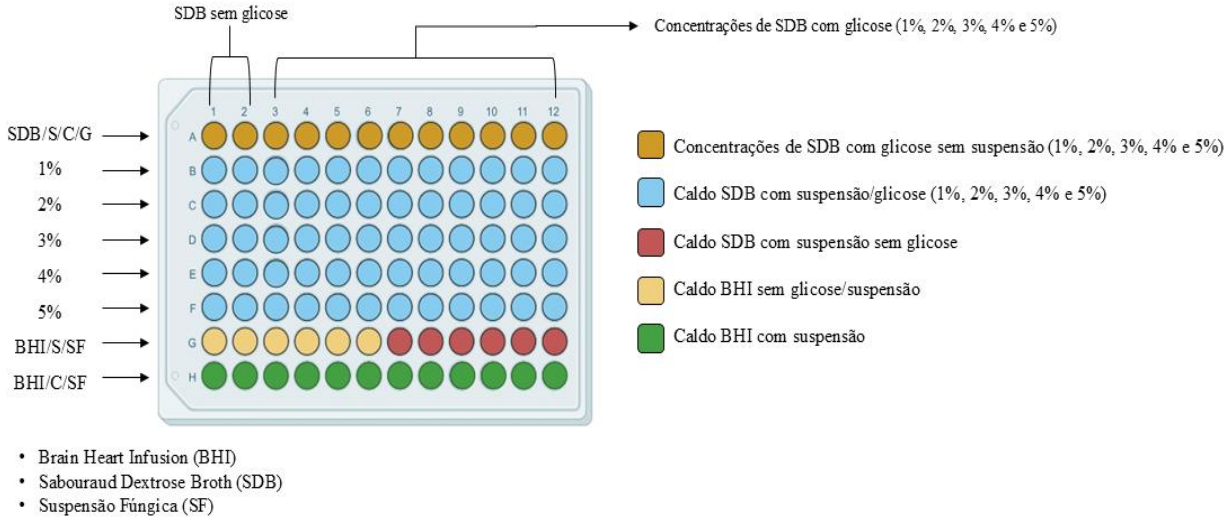
4.3.3. Condições de cultivo e padronização do inóculo

Previamente aos ensaios, as cepas foram descongeladas e semeadas em Ágar Sabouraud Dextrose (*Sabouraud Dextrose Agar* – SDA), sendo incubadas a 37 °C por 24 a 48 horas. Em seguida, colônias isoladas foram transferidas individualmente para tubos contendo 4 mL de Caldo Sabouraud Dextrose (*Sabouraud Dextrose Broth* – SDB) ou *Brain Heart Infusion* (BHI) e incubadas a 37 °C por 24 horas. Posteriormente, as suspensões microbianas foram submetidas à padronização da densidade do inóculo por espectrofotometria. Para a determinação da densidade óptica (DO), as suspensões foram ajustadas até atingir uma DO de 0,1 a 600 nm, valor utilizado como padrão para todas as cepas e ensaios. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Even, modelo IL-226, Brasil).

4.3.4. Condições de formação de biofilme em *Candida* spp.

Para o preparo dos ensaios de avaliação das condições de crescimento para formação de biofilme com as espécies do gênero *Candida* spp., foram realizadas as seguintes etapas: primeiramente, foi feita a preparação do Caldo Sabouraud Dextrose (*Sabouraud Dextrose Broth* – SDB) em tubos de 4 mL com diferentes concentrações de glicose (1%, 2%, 3%, 4%, 5% e sem glicose), assim como foi preparado o caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) sem glicose. Todos os materiais foram devidamente preparados, identificados e autoclavados.

Figura 4 - Ilustração das condições de crescimento das espécies do gênero *Candida* spp.



Fonte: Elaboração própria, criada com o auxílio da plataforma BioRender.com (2026).

Para o experimento, as suspensões fúngicas foram padronizadas por espectrofotometria, ajustando-se a absorbância para 0,1 no comprimento de onda de 600 nm. Em seguida, 50 µL de cada suspensão foram adicionados a tubos contendo 4.950 µL do respectivo caldo de cultivo, estabelecendo-se uma diluição de 1:100 e um volume final de 5 mL por tubo, com concentração celular final de aproximadamente $1{,}0 \times 10^4$ a $5{,}0 \times 10^4$ células/mL.

Posteriormente, o experimento foi conduzido em microplacas de 96 poços, nas quais foram adicionados 100 µL dos meios de cultura SDB contendo diferentes concentrações de glicose e BHI sem suplementação de glicose. A microplaca, de fundo em formato de “U”, foi incubada em estufa a 37 °C por 48 h, conforme ilustrado na Figura 4.

Após o período de incubação, o conteúdo de cada poço foi descartado, e os poços foram lavados com solução salina tamponada com fosfato (*Phosphate-Buffered Saline* – PBS) (pH 7,4) e secos em estufa, com a placa posicionada de cabeça para baixo, durante 10 min. Na sequência, foram adicionados 100 µL de metanol a cada poço, mantendo-se a placa em repouso

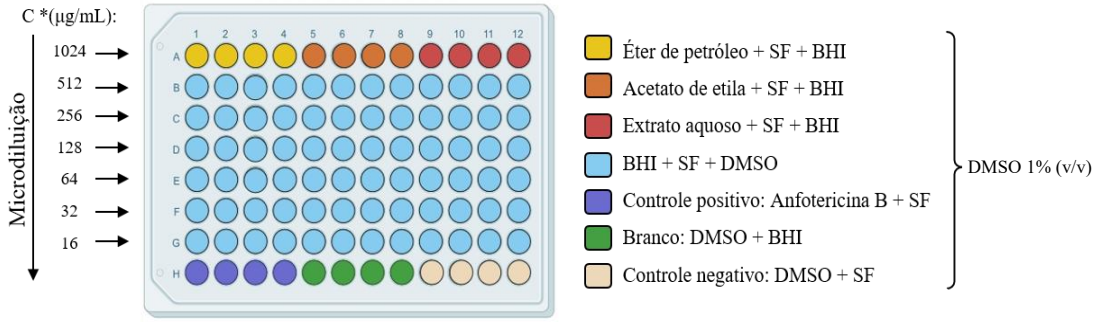
por 30 min. Posteriormente, o metanol foi descartado, e os poços foram novamente secos em estufa por 10 min. Em seguida, foram adicionados 100 µL de cristal violeta a 0,5% em cada poço, e a placa foi incubada em estufa por 30 min.

Após esse período, o cristal violeta foi descartado, e os poços foram lavados com água deionizada e novamente secos em estufa por 10 min. Posteriormente, foram adicionados 100 µL de ácido acético a 33% em cada poço, permanecendo em repouso por 1 h para a solubilização do corante. Em seguida, o conteúdo dos poços foi transferido para uma nova microplaca de 96 poços. A biomassa do biofilme foi indiretamente quantificada espectrofotometricamente em leitor de microplacas, utilizando-se comprimento de onda de 590 nm.

4.3.5. Determinação da concentração inibitória mínima

A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) em meio líquido foi realizada pelo método de microdiluição em caldo, seguindo as diretrizes do (BRCAST; EUCAST, 2023). Para tanto, preparou-se uma suspensão fúngica padronizada (SF) em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) ou Caldo Sabouraud Dextrose (*Sabouraud Dextrose Broth* – SDB) — definidos em conformidade com os resultados dos ensaios de otimização de formação de biofilme —, densidade óptica (DO), as suspensões foram ajustadas até atingir uma DO de 0,1 a 600 nm,

Figura 5 - Ilustração da microdiluição em caldo em placa de 96 poços.



* Suspensão fúngica (SF), Brain Heart Infusion (BHI).

Fonte: Elaboração própria, criada com o auxílio da plataforma BioRender.com (2026).

Em microplacas de 96 poços, foram inicialmente adicionados 200 µL das frações (éter de petróleo, acetato de etila e extrato aquoso), preparadas em DMSO a 1% (v/v), nos poços da fileira A (A1–A12). Em seguida, diluições seriadas (razão 1:2) foram realizadas mediante a transferência sucessiva de 100 µL para as fileiras subsequentes, até a fileira G. Para manter o volume constante antes da inoculação, 100 µL da última fileira (G) foram descartados, obtendo-

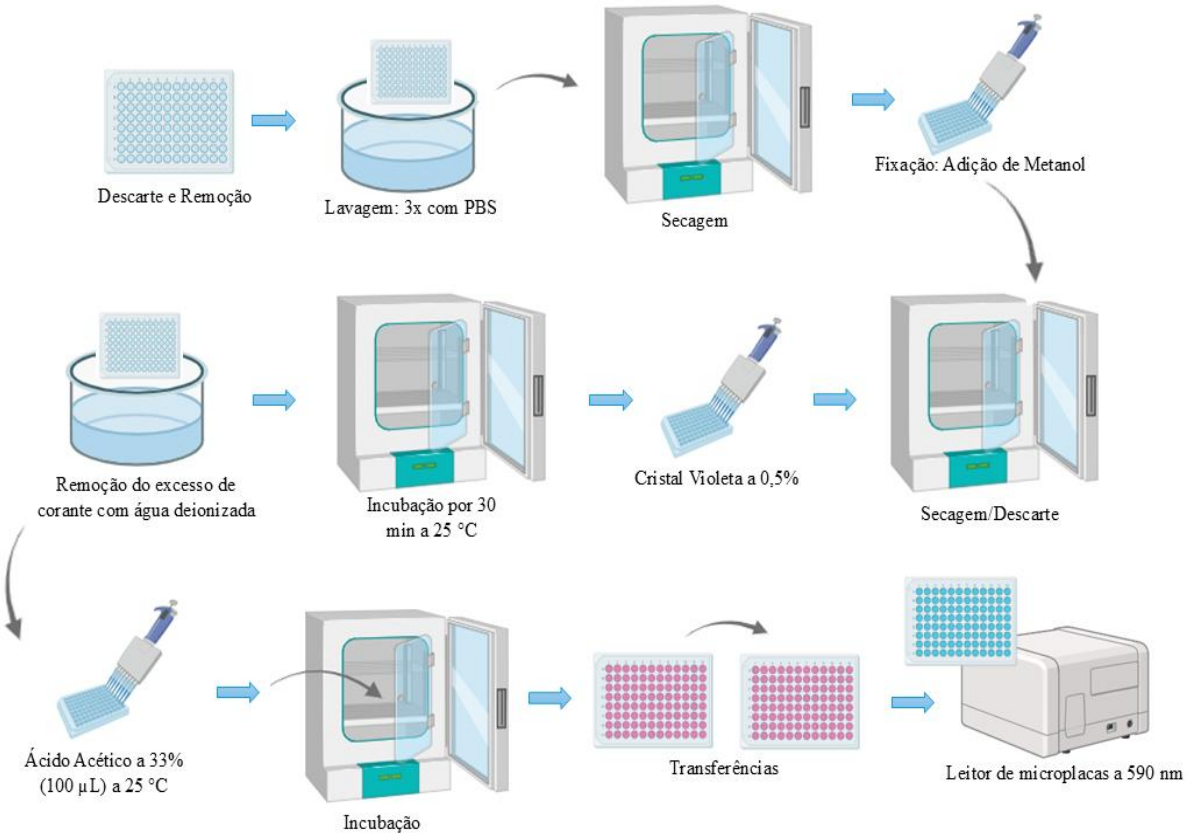
se concentrações finais entre 1024 e 16 µg/mL. Após a diluição, adicionaram-se 100 µL da suspensão fúngica a cada poço, totalizando um volume final de 200 µL por poço. Para a validação do ensaio, foram incluídos os controles: positivo (anfotericina B + SF), negativo (DMSO a 1% + SF), branco (DMSO a 1% + meio de cultura) e de crescimento (meio de cultura + SF + DMSO a 1%).

As placas foram incubadas a 35 °C por 48 h, e a leitura dos resultados foi realizada em leitor de microplacas a 600 nm (Thermo Fisher Scientific®, Multiskan GO – N/S 1510-01202, Finlândia). A CIM foi definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento fúngico visível em comparação ao controle de crescimento. Esse procedimento permitiu avaliar, de forma quantitativa e comparativa, a atividade antifúngica das frações testadas. Todos os experimentos foram conduzidos em triplicata.

4.3.6. Atividade antibiofilme

Os ensaios de atividade antibiofilme foram conduzidos conforme os protocolos descritos por Stepanović *et al.* (2007), Aghazadeh *et al.* (2016) e Jovito *et al.* (2024), com adaptações. Inicialmente, determinaram-se as condições ideais de crescimento para os isolados de *Candida* spp., estabelecendo o meio de cultivo e a concentração de glicose adequados. A formação e a inibição do biofilme foram avaliadas pela metodologia de microdiluição em caldo.

Figura 6 - Representação esquemática do procedimento de atividade antibiofilme.



Fonte: Elaboração própria, criada com o auxílio da plataforma BioRender.com (2026).

O conteúdo final foi transferido para novas microplacas e a absorbância foi mensurada a 590 nm em leitor de microplacas. Todos os experimentos foram realizados em triplicata, em ocasiões independentes, e os resultados foram expressos como percentual de formação de biofilme na equação.

$$\text{Formação de biofilme (\%)} = \frac{\bar{A}_a - \bar{A}_b}{\bar{A}_0 - \bar{A}_b} \times 100$$

Nota: Absorbância média ($\bar{A}$) de três resultados por experimento; Amostra (a) = Fração; Branco (b); Controle negativo (0).

4.4. Toxicidade frente a *Artemia salina*

4.4.1. Condições do pré-ensaio e cultivo

O ensaio *in vivo* de ecotoxicologia aquática foi conduzido para avaliar a toxicidade aguda das frações dos extratos da *Curatella americana* em *Artemia salina* nos períodos de 24 e 48 horas, seguindo as diretrizes da ABNT NBR 16530:2016 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2016). Para a preparação do ensaio, utilizou-se solução de sal

marinho (Instant Ocean®, EUA), previamente aerada por 10 minutos com bomba de aquário portátil e ajustada para pH 7,5. O sal foi dissolvido em água deionizada com condutividade inferior a 10 µS/cm. Os cistos dos organismos-teste foram adquiridos comercialmente (Piscicultura Potiguar, Rio Grande do Norte, Brasil) e mantidos em temperatura ambiente, protegidos da luz até o momento do uso.

4.4.2. Condições do ensaio

Os cistos de *Artemia salina* (0,15 g/L) foram adicionados a 67 mL da solução salina em um funil de separação. A vidraria foi tampada e mantida em estufa a 25 ± 1,5 ºC (Ethik Technology®, 403-3D, Brasil), na ausência de luz, por 48 horas. Em seguida, as frações dos extratos foram solubilizadas em dimetilsulfóxido (DMSO) P.A. e incorporadas ao volume final de 10 mL da solução salina, de modo que as concentrações finais obtidas fossem de 1024, 512, 256, 128 e 64 µg/mL. A solução aquosa de sulfato de cobre (II) penta-hidratado (1000 µg/mL) foi utilizada como controle positivo, enquanto o DMSO serviu como controle negativo. Todas as soluções foram preparadas garantindo concentração final de 1% (v/v) de DMSO nos frascos.

Os cistos eclodidos foram transferidos para frascos coletores universais (10 náuplios por frasco), aos quais foram adicionadas as respectivas soluções das frações (um frasco por grupo). Os frascos foram tampados e mantidos em estufa por 24 e 48 horas. Os experimentos foram realizados em triplicata e considerados válidos quando a letalidade no controle negativo foi igual ou inferior a 10%. Durante o período experimental, os náuplios não receberam alimentação, e ao final de cada intervalo foram registrados os números de organismos vivos e mortos.

4.4.3. Validação e expressão dos resultados

Os resultados de mortalidade foram expressos pela concentração letal capaz de provocar a morte de 50% dos organismos-teste após 24 e 48 horas de exposição (CL_{50}–24 h e CL_{50}–48 h). Os valores de CL_{50} foram determinados por regressão não linear, utilizando curva sigmoide de dose-resposta com inclinação variável, no software GraphPad Prism 9®. Quando a mortalidade não atingiu 50% na maior concentração avaliada, a CL_{50} foi expressa como superior ao limite máximo testado (>1024 µg/mL).

As diferenças de mortalidade entre os grupos foram avaliadas por ANOVA de uma via (one-way), seguida do pós-teste de Dunnett, comparando-se as concentrações testadas ao controle negativo. A homogeneidade das variâncias foi verificada pelo teste de Brown-

Forsythe, e a qualidade do ajuste da regressão foi avaliada pelo coeficiente de determinação (R^2). Adotou-se nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos nos ensaios de atividade antifúngica e antibiofilme foram submetidos à análise estatística descritiva (média e desvio padrão) e inferencial. Para verificar a existência de diferenças significativas entre os tratamentos, aplicou-se a análise de variância (ANOVA *one-way*), seguida pelo teste de comparações múltiplas de Tukey, considerando um nível de significância de $p < 0,05$. Os dados foram tabulados no Microsoft Excel e os gráficos foram confeccionados por meio do software GraphPad Prism, versão 9.0.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Rendimento do extrato

O rendimento obtido do extrato bruto foi de 4,08%, correspondente a 44,92 g de extrato seco, apresentou distribuição diferenciada entre as frações obtidas após a partição líquido-líquido. A predominância da fração aquosa (51,48%; 17,73 g), seguida da fração de acetato de etila (45,94%; 15,82 g), sugere maior recuperação de constituintes de caráter polar ou de polaridade intermediária, enquanto a baixa massa obtida na fração de éter de petróleo (2,58%; 0,89 g) indica menor recuperação de substâncias de caráter predominantemente apolar.

Esses resultados devem ser comparados com cautela com outros trabalhos anteriores, como os de Hiruma-Lima *et al.* (2009), De Toledo *et al.* (2011; 2015) e Lima *et al.* (2023), porque utilizaram parte da planta como casca e folha, e não a entrecasca. Por isso as diferenças entre os procedimentos de extração, morfologia da planta, especialmente quanto à composição e polaridade dos solventes, ao tempo e ao número de ciclos de extração, podem influenciar tanto o rendimento quanto o perfil químico dos extratos obtidos. Dessa forma, a diferença observada entre os resultados não deve ser atribuída exclusivamente à composição química da planta, mas também às condições empregadas no processo de extração.

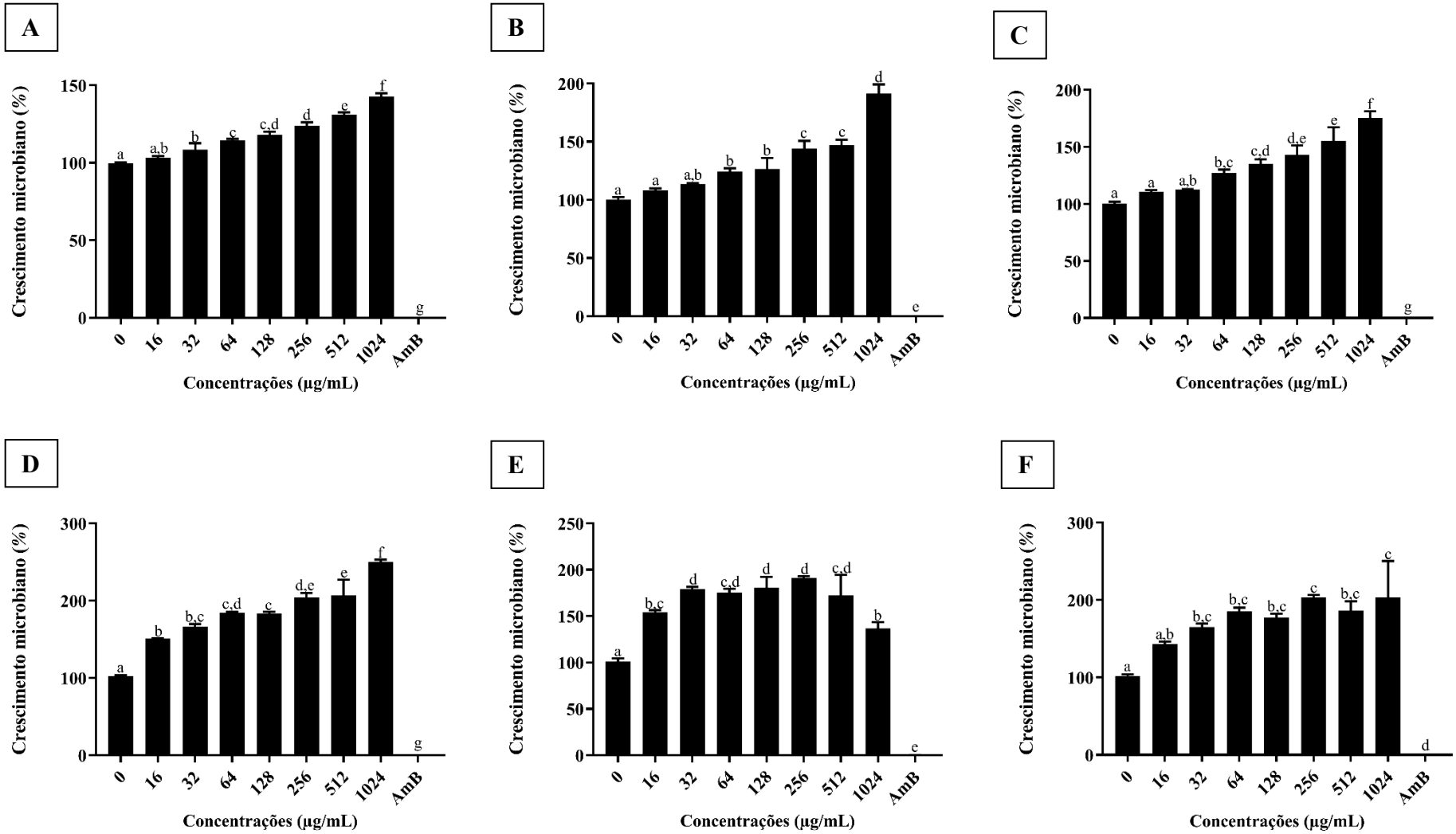
5.2. Atividade antifúngica frente a *Candida* spp.

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) das frações do extrato de *Curatella americana* L. foi determinada pelo método de microdiluição em caldo. Os resultados das frações de éter de petróleo, acetato de etila e aquosa frente a *C. albicans* ATCC 90028 estão apresentados na Figura 7A-C. Não foi possível determinar a CIM, pois nenhuma das concentrações avaliadas (16 a 1.024 µg/mL) inibiu o crescimento fúngico.

Embora tenham sido observadas diferenças estatisticamente significativas a partir de 64 µg/mL, elas não foram interpretadas como evidência de atividade antifúngica, pois os valores de crescimento permaneceram acima de 100% do controle negativo. Assim, não houve redução do crescimento que caracterizasse efeito inibitório das frações.

Para *C. albicans* ATCC 90029, as três frações também não apresentaram atividade antifúngica que permitisse determinar a CIM (Figura 7D-F). Na maior concentração avaliada (1.024 µg/mL), o crescimento foi de 97%, evidenciando ausência de efeito inibitório relevante. As variações pontuais entre algumas concentrações não indicaram padrão dose-dependente consistente. Portanto, não foi possível determinar a CIM para nenhuma das frações.

Figura 7 - Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) das frações de *C. americana* L. frente a *C. albicans*: (A) éter de petróleo, (B) acetato de etila e (C) extrato aquoso, frente à cepa *C. albicans* ATCC 90028; e (D) éter de petróleo, (E) acetato de etila e (F) extrato aquoso, frente à cepa *C. albicans* ATCC 90029, pelo método de microdiluição em caldo.



Nota: Controle positivo: Anfotericina B 0,4 µg/mL (AmB). Controle negativo: Meio + Suspensão fúngica + DMSO 1% (0). Os resultados são representativos de experimentos independentes realizados em triplicata. A análise estatística foi realizada pelo teste de ANOVA de via única (*One-way* ANOVA), seguido do teste de pós-comparação de Tukey ($p < 0,05$). Letras iguais sobre as barras indicam médias estatisticamente equivalentes, enquanto letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos. Fonte: Elaboração própria (2026).

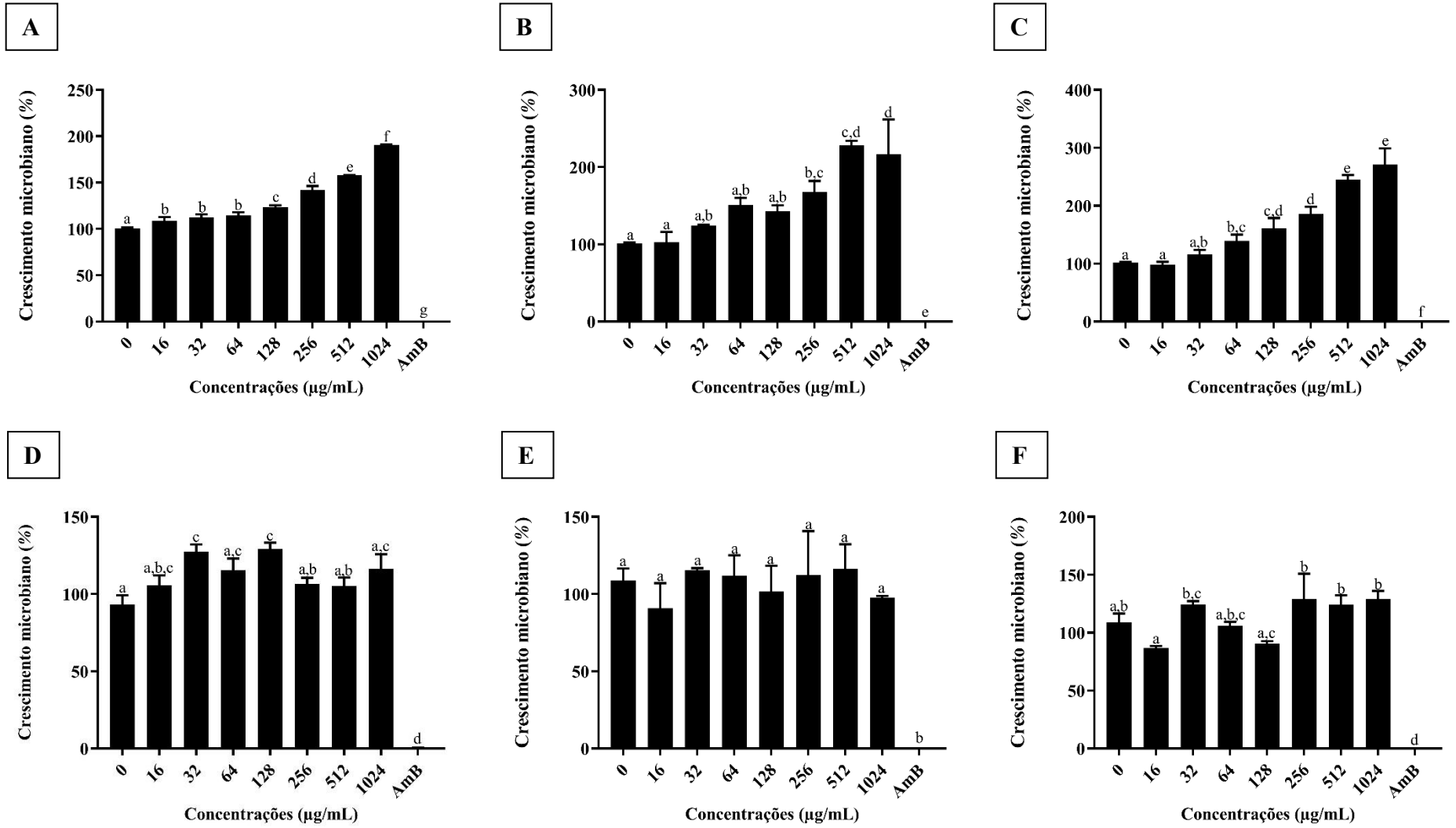
Para *C. parapsilosis* ATCC 22019, as frações não apresentaram atividade antifúngica no intervalo de concentrações avaliado (16 a 1.024 µg/mL; Figura 8A-C), e a CIM não pôde ser determinada. Embora tenham sido observadas diferenças estatisticamente significativas pontuais, a ausência de padrão dose-dependente consistente, somada à possível interferência espectrofotométrica decorrente das características das frações, não permitiu atribuí-las a um efeito antifúngico.

Para *C. krusei* ATCC 6258, as frações também não apresentaram atividade antifúngica no mesmo intervalo de concentrações (Figura 8D-F), e a CIM não pôde ser determinada. Na comparação entre as concentrações de cada fração, a maioria não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre si, e não se identificou padrão dose-dependente consistente que indicasse efeito antifúngico.

Para *C. tropicalis* ATCC 13803, as três frações diferiram significativamente do controle negativo (0 µg/mL) em todas as concentrações avaliadas (16 a 1.024 µg/mL), com valores de crescimento acima de 100%. No entanto, não houve diferenças significativas entre as concentrações testadas nem padrão dose-dependente consistente. Assim, como o crescimento superou o do controle negativo, as diferenças observadas não foram interpretadas como atividade antifúngica, e não foi possível determinar a CIM nas condições experimentais avaliadas (Figura 9A-C). Esse resultado contrasta com o observado nos ensaios antibiofilme, nos quais as frações reduziram a biomassa do biofilme dessa cepa.

Para *C. tropicalis* ATCC 750, a fração de éter de petróleo reduziu significativamente o crescimento fúngico nas concentrações de 512 e 1.024 µg/mL (Figura 9D). A análise de variância revelou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (ANOVA: $F(8,19) = 59,39$; $p < 0,0001$). O teste de Tukey mostrou que as concentrações de 512 e 1.024 µg/mL apresentaram médias de crescimento de 37,59% e 54,43%, respectivamente, significativamente inferiores à do controle negativo (103,7%; $p < 0,0001$ para ambas as comparações). As concentrações de 16 a 256 µg/mL não diferiram do controle negativo. Não houve diferença significativa entre 512 e 1.024 µg/mL ($p = 0,3376$), de modo que não se observou resposta dose-dependente progressiva. Esses resultados não permitiram estabelecer a CIM, conforme os critérios adotados.

Figura 8 - Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) das frações de *C. americana* L. frente a *C. parapsilosis* ATCC 22019: (A) fração de éter de petróleo, (B) fração de acetato de etila e (C) fração aquosa; e a *C. krusei* ATCC 6258: (D) fração de éter de petróleo, (E) fração de acetato de etila e (F) fração aquosa, pelo método de microdiluição em caldo.



Nota: Controle positivo: Anfotericina B 0,4 µg/mL (AmB). Controle negativo: Meio + Suspensão fúngica + DMSO 1% (0). Os resultados são representativos de experimentos independentes realizados em triplicata. A análise estatística foi realizada pelo teste de ANOVA de via única (*One-way* ANOVA), seguido do teste de pós-comparação de Tukey ($p < 0,05$). Letras iguais sobre as barras indicam médias estatisticamente equivalentes, enquanto letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos. Fonte: Elaboração própria (2026).

De modo geral, a atividade das frações obtidas da entrecasca de *C. americana* diferiu entre as cepas de *C. tropicalis* avaliadas. Para a cepa ATCC 13803, não houve inibição do crescimento fúngico que permitisse determinar a CIM. Para a cepa ATCC 750, a fração de éter de petróleo reduziu significativamente o crescimento em 512 e 1.024 µg/mL, sem padrão dose-dependente progressivo, o que indica uma resposta específica dessa cepa. Sua possível atividade antifúngica deve ser interpretada à luz dos critérios metodológicos adotados para a determinação da CIM.

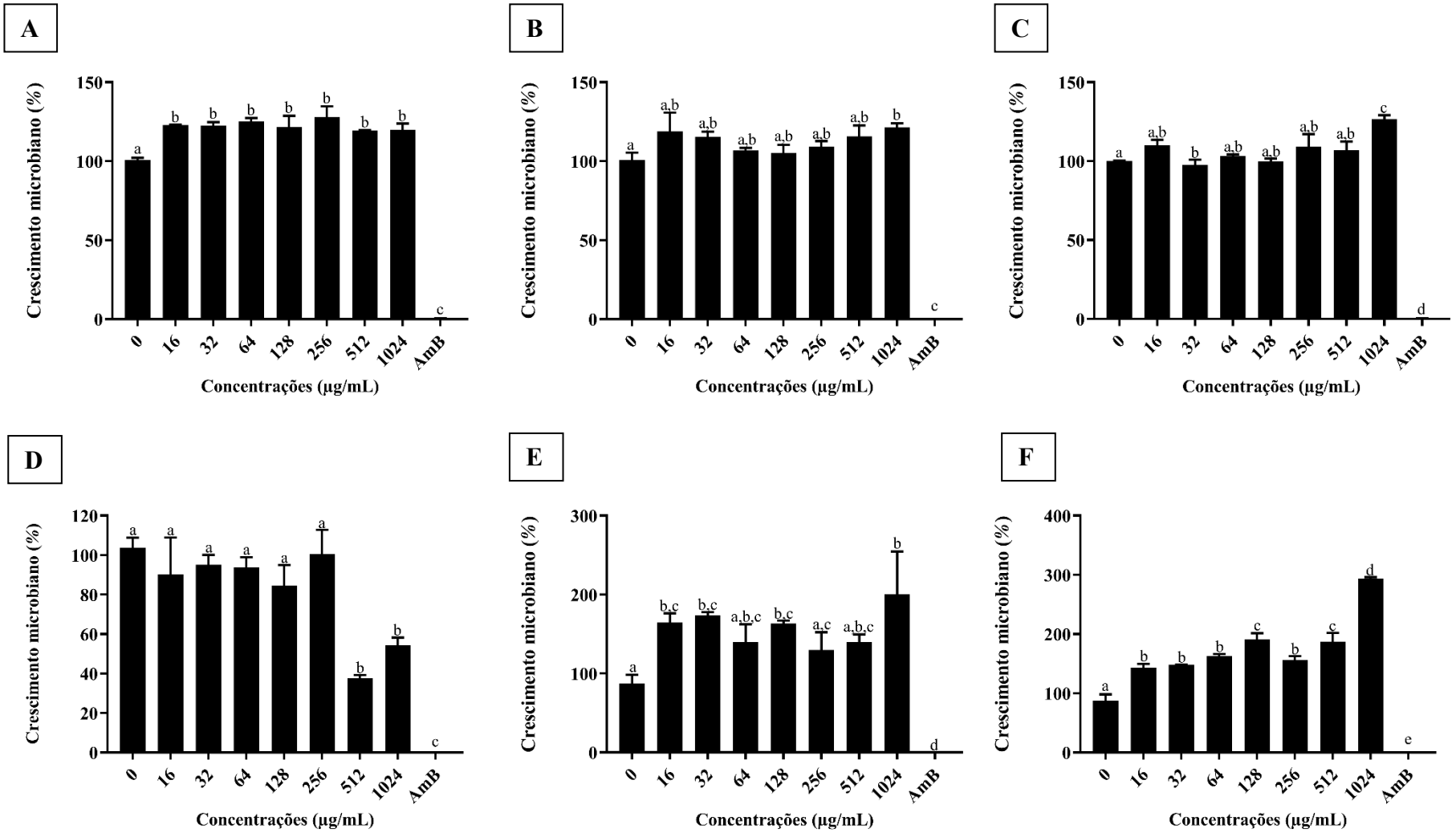
A redução do crescimento da ATCC 750 sugere a contribuição de compostos de menor polaridade presentes na entrecasca de *C. americana*, incluindo constituintes lipofílicos. Essa hipótese, porém, depende da caracterização química da fração. Além disso, a ausência de efeito inibitório relevante nas demais cepas sugere que a resposta biológica varia conforme a suscetibilidade do microrganismo e a composição química das frações testadas.

Resultados distintos foram descritos por Toledo *et al.* (2015), que relataram atividade antifúngica em extratos da casca do caule de *C. americana* e em compostos isolados, como catequinas e seus derivados. As diferenças em relação ao presente estudo podem estar relacionadas à parte vegetal utilizada, já que aqui foi avaliada a entrecasca, enquanto estudos anteriores investigaram outras partes da planta. Fatores como o método de extração, o fracionamento, as condições ambientais e a composição química dos tecidos também podem influenciar a distribuição e a concentração dos metabólitos secundários e, consequentemente, a atividade biológica. Os resultados ampliam o conhecimento sobre o potencial biológico da entrecasca, cuja atividade antifúngica ainda é pouco explorada, e levantam a hipótese de um perfil fitoquímico distinto daquele da casca e das folhas, a ser esclarecido pela caracterização dos metabólitos.

A anfotericina B, utilizada como controle positivo, apresentou atividade antifúngica nas cepas avaliadas, o que demonstra a resposta esperada nas condições experimentais empregadas. O efeito da fração de éter de petróleo sobre a ATCC 750 indica ação sobre o crescimento fúngico, mas não permite, isoladamente, estabelecer a CIM. São necessários estudos adicionais, incluindo a caracterização fitoquímica das frações, a identificação dos constituintes potencialmente ativos e a determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM).

Por fim, considerando os ensaios com células planctônicas e os de formação de biofilmes, a atividade biológica da entrecasca de *C. americana* foi mais evidente nos ensaios de biofilme do que na inibição do crescimento planctônico. Isso sugere um possível efeito sobre processos associados à formação ou ao desenvolvimento do biofilme. A confirmação dessa hipótese, porém, exige investigações específicas que distingam os efeitos sobre a formação e a estrutura do biofilme daqueles relacionados à viabilidade celular.

Figura 9 - Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) das frações de *C. americana* L. frente a *C. tropicalis* ATCC 13803: (A) fração de éter de petróleo, (B) fração de acetato de etila e (C) fração aquosa; e frente a *C. tropicalis* ATCC 750: (D) fração de éter de petróleo, (E) fração de acetato de etila e (F) fração aquosa, pelo método de microdiluição em caldo.



Nota: Controle positivo: Anfotericina B 0,4 µg/mL (AmB). Controle negativo: Meio + Suspensão fúngica + DMSO 1% (0). Os resultados são representativos de experimentos independentes realizados em triplicata. A análise estatística foi realizada pelo teste de ANOVA de via única (*One-way* ANOVA), seguido do teste de pós-comparação de Tukey ($p < 0,05$). Letras iguais sobre as barras indicam médias estatisticamente equivalentes, enquanto letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos. Fonte: Elaboração própria (2026).

5.3. Avaliação da capacidade de formação de biofilme *in vitro*

Foi avaliada a formação de biomassa de biofilme pelas dez cepas de *Candida* spp. deste estudo: *C. albicans* ATCC 64129, ATCC 10231, ATCC 44858, ATCC 90028 e ATCC 90029; *C. parapsilosis* ATCC 22019 e ATCC 90018; *C. krusei* ATCC 6258; e *C. tropicalis* ATCC 750 e ATCC 13803. A biomassa foi quantificada por coloração com cristal violeta em microplacas de 96 poços, comparando-se o meio *Brain Heart Infusion* (BHI) e o *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB), sem suplementação e suplementado com glicose a 1%, 2%, 3%, 4% e 5%. O objetivo foi definir as condições de cultivo para os ensaios de atividade antibiofilme das frações de *Curatella americana* L.

A formação de biomassa variou conforme a espécie, a cepa e a condição de cultivo. A suplementação com glicose elevou as médias em algumas cepas, mas não de modo uniforme. Várias cepas apresentaram maiores médias no BHI, independentemente da suplementação do SDB. *C. albicans*. Houve diferenças significativas entre as condições de cultivo nas cinco cepas, com padrões distintos (Figura 10). Na ATCC 64129 (Figura 10A), a maior média foi obtida no SDB com 4% de glicose. Essa condição foi significativamente superior ao BHI, ao SDB sem suplementação e às condições com 1%, 2% e 5% de glicose, mas não diferiu da condição com 3%. A média com 5% foi menor que a obtida com 4%.

Na ATCC 10231 (Figura 10B), a ANOVA indicou diferenças significativas ($F(6,11) = 8,039$; $p = 0,0016$). O BHI apresentou a maior média, significativamente superior ao SDB sem suplementação e às condições com 1%, 2%, 3% e 5% de glicose, mas sem diferença em relação ao SDB com 4% ($p = 0,1186$). Não houve diferenças significativas entre as condições de SDB.

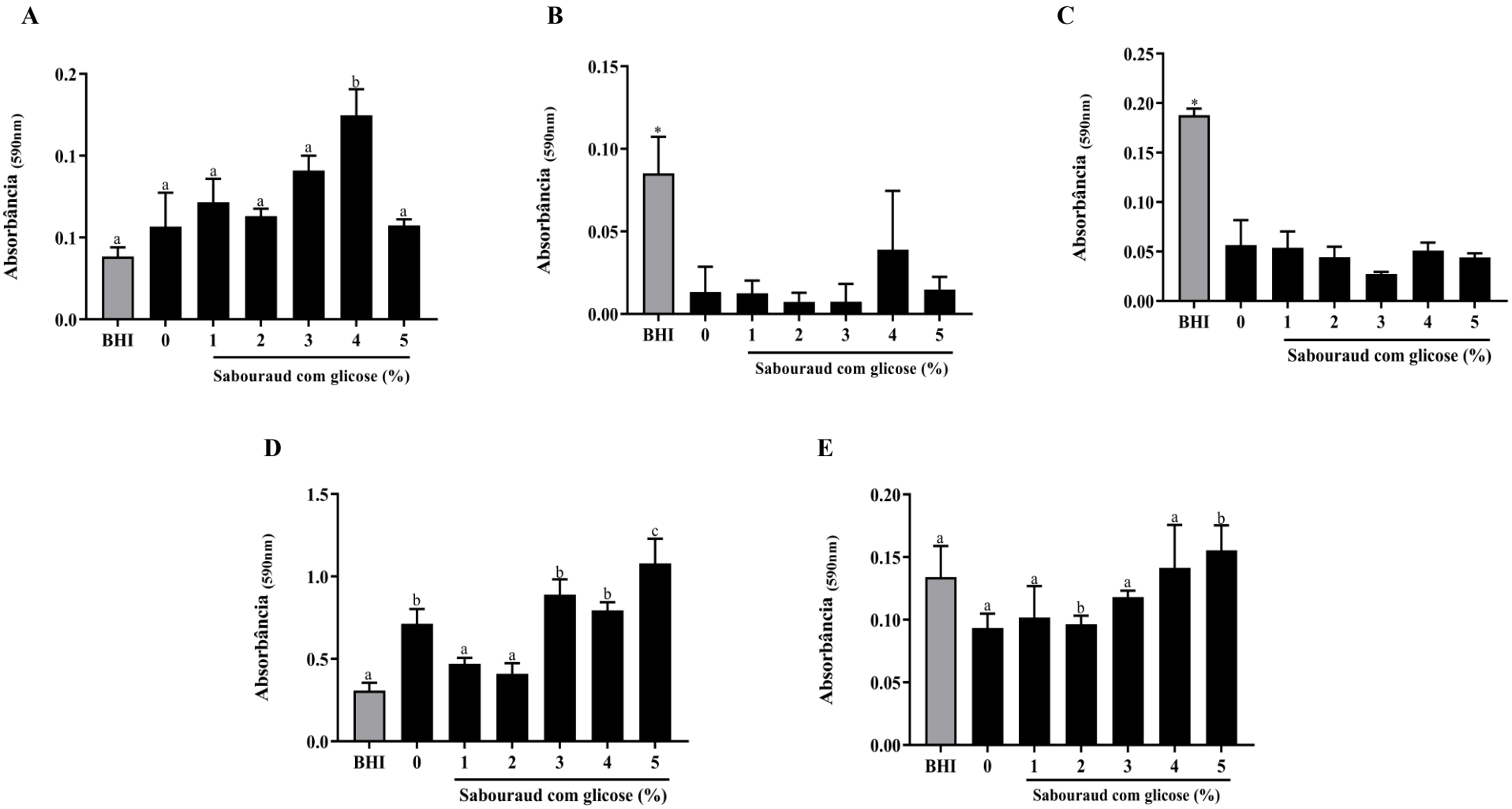
Na ATCC 44858 (Figura 10C), a ANOVA também indicou diferenças significativas ($F(6,14) = 54,27$; $p < 0,0001$). O BHI apresentou a maior média, significativamente superior a todas as condições de SDB, entre as quais não houve diferenças. Na ATCC 90029 (Figura 10D), as maiores médias ocorreram no SDB com glicose ($F(6,16) = 34,84$; $p < 0,0001$): 5% (1,080), 3% (0,8895) e 4% (0,7945). A condição com 5% foi significativamente superior ao BHI, ao SDB sem suplementação e às condições com 1%, 2% e 4%, mas não diferiu da condição com 3% ($p = 0,1358$). A condição com 3% foi superior ao BHI e às condições com 1% e 2%.

Na ATCC 90028 (Figura 10E), a ANOVA indicou diferenças significativas (F (6,14) = 4,037; p = 0,0147). A maior média foi observada no SDB com 5% de glicose (0,1554), que diferiu apenas do SDB sem suplementação (p = 0,0331) e da condição com 2% (p = 0,0457). Não houve diferenças significativas entre o BHI e as condições de SDB. *C. parapsilosis*. Na ATCC 22019 (Figura 11A), a maior média foi observada com 5% de glicose (0,4032). Essa condição foi significativamente superior ao SDB sem suplementação e às condições com 1%, 2% e 3%, mas não diferiu da condição com 4%. As condições com 3%, 4% e 5% apresentaram médias significativamente superiores às do BHI.

Na ATCC 90018 (Figura 11B), a maior média ocorreu no SDB com 3% de glicose (0,5253), seguida pelo BHI (0,4479) e pelo SDB com 5% (0,3581) (F (6,14) = 9,710; p = 0,0003). O BHI foi significativamente superior às condições com 1% e 2%, mas não diferiu do SDB sem suplementação nem das condições com 3%, 4% e 5%. Entre as condições de SDB, a de 3% foi superior às de 1%, 2% e 4%, sem diferença em relação ao SDB sem suplementação e à condição com 5%. *C. krusei*. Na ATCC 6258 (Figura 11C), o BHI apresentou a maior média, numericamente superior à de todas as formulações de SDB, inclusive as suplementadas com glicose.

C. tropicalis. Na ATCC 750 (Figura 11D), a ANOVA indicou diferenças significativas (F (6,53) = 8,903; p < 0,0001). A maior média foi observada no BHI (0,5117), significativamente superior ao SDB sem suplementação e às condições com 1%, 2%, 3%, 4% e 5% de glicose (Tukey). Entre as condições de SDB, a única diferença significativa ocorreu entre 2% e 4% (p = 0,0487), com menor média em 4%. Na ATCC 13803 (Figura 11E), a ANOVA indicou diferenças significativas (F (6,15) = 280,1; p < 0,0001). O BHI apresentou a maior média (3,533), significativamente superior ao SDB sem suplementação e a todas as condições com glicose de 1% a 5% (p < 0,0001). Não houve diferenças significativas entre as condições de SDB.

Figura 10 – Avaliação da formação de biofilme de *Candida* spp. em diferentes meios de cultivo. Cepas de *C. albicans*: ATCC 64129 (A), ATCC 10231 (B), ATCC 44858 (C), ATCC 90029 (D) e ATCC 90028 (E).



Nota: Absorbância a 590 nm. Controle negativo: SF + BHI ou SDB sem glicose (0). Os dados estão expressos como média de experimentos realizados em triplicata, analisados por ANOVA de via única e teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras iguais sobre as barras indicam médias estatisticamente equivalentes, enquanto letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). Fonte: Elaboração própria (2026).

A formação de biomassa de biofilme pelas dez cepas foi influenciada pela interação entre a linhagem e as condições de cultivo. A suplementação com glicose associou-se a maiores médias em algumas cepas (*C. parapsilosis* ATCC 22019 e *C. albicans* ATCC 64129 e ATCC 90029), mas não nas demais. Nas cepas em que a glicose influenciou a biomassa, a resposta não foi proporcional à concentração. Isso é evidente na ATCC 64129, cuja média foi menor com 5% do que com 4%, e na *C. parapsilosis* ATCC 90018, com maior média em 3%. Não houve, portanto, uma concentração de glicose capaz de maximizar a biomassa em todas as cepas, nem mesmo dentro da mesma espécie.

Esse padrão é compatível com a literatura. Serrano-Fujarte *et al.* (2015) relataram que diferentes espécies de *Candida* respondem de modo distinto ao meio de cultivo e à concentração de glicose. Santana *et al.* (2013) mostraram que a disponibilidade de carboidratos pode alterar características do biofilme de *C. albicans*, como a contagem celular, a atividade metabólica e a produção de polissacarídeos, com efeitos que variam conforme o carboidrato e a fase de desenvolvimento. Weerasekera *et al.* (2016) observaram que o meio de cultivo afeta de forma distinta o crescimento planctônico, a adesão e a formação de biofilme em *C. albicans* e *C. tropicalis*. Os delineamentos desses estudos diferem do presente, mas todos reforçam que meio, espécie e desfecho avaliado devem ser considerados em conjunto na padronização do modelo.

Entre as cepas de *C. albicans*, as ATCC 10231 e ATCC 44858 formaram mais biomassa no BHI, sem ganho significativo com a glicose no SDB. Já a ATCC 90029 respondeu à glicose, com maiores médias nas concentrações mais altas. A ATCC 90028 apresentou biomassa baixa em todas as condições (máximo de 0,1554), e a superioridade do SDB com 5% foi restrita a comparações com outras condições de SDB, sem diferença em relação ao BHI. Por isso, essa condição não pode ser considerada mais favorável que o BHI para essa cepa.

Em *C. parapsilosis*, a ATCC 22019 apresentou maiores médias nas concentrações mais altas de glicose, enquanto a ATCC 90018 teve maior média em 3%, com diferenças significativas restritas a certas comparações. Pereira *et al.* (2015) demonstraram que a glicose pode modular a quantidade, a estrutura e a composição da matriz do biofilme de *C. parapsilosis*, incluindo a transição entre leveduras e pseudo-hifas e a expressão de genes como *BCR1*, *FKS1* e *OLE1*. Esses mecanismos não foram avaliados aqui. Eles oferecem uma explicação plausível, mas não permitem afirmar que sejam responsáveis pelas respostas observadas. A diferença entre as duas cepas indica variabilidade intraespecífica. Além disso, a ausência de diferença

significativa entre 4% e 5% na ATCC 22019 mostra que o maior valor numérico com 5% não representa, necessariamente, vantagem estatística.

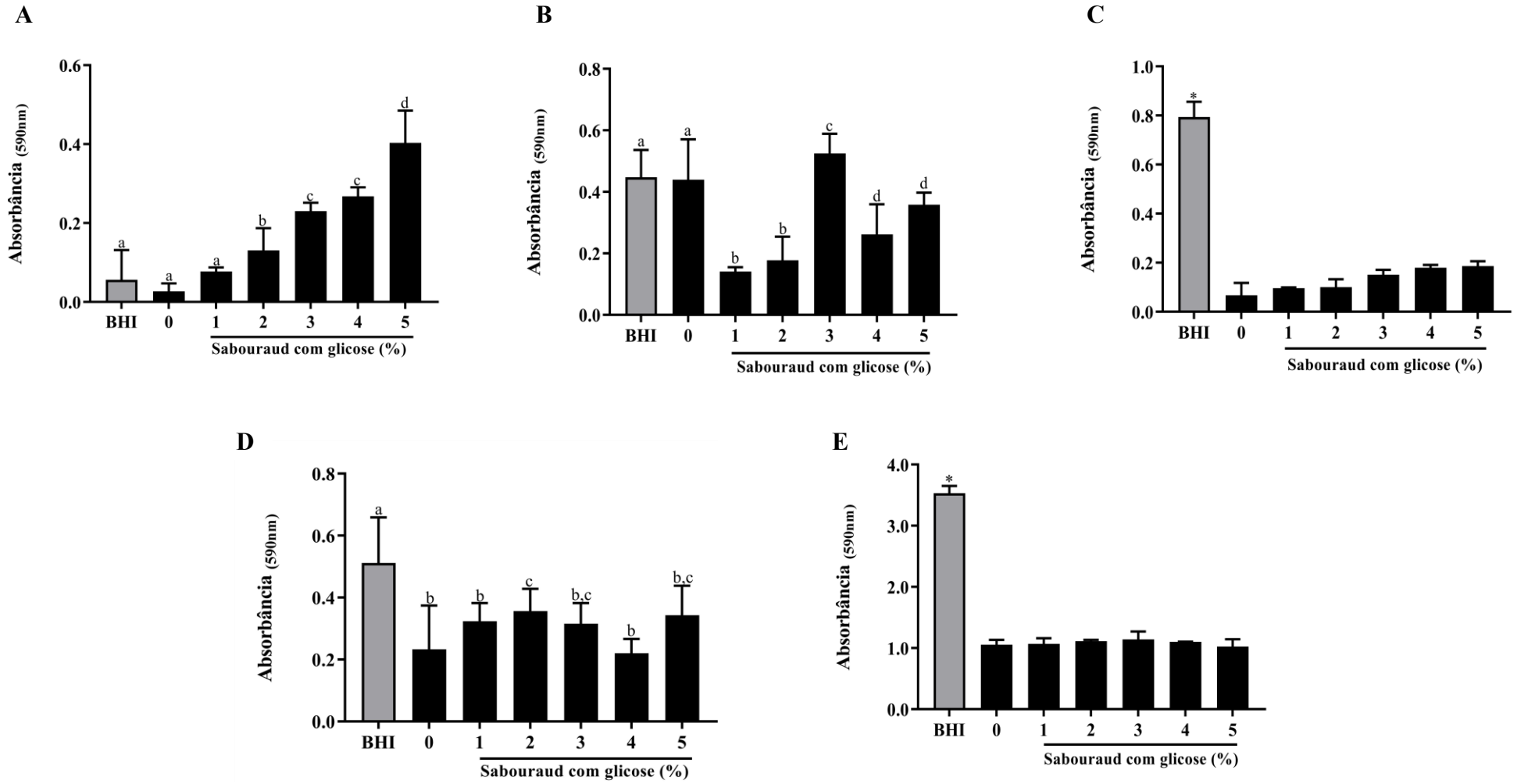
Em *C. krusei* ATCC 6258, a maior média no BHI sugere que a suplementação do SDB com glicose, isoladamente, não reproduziu as condições do BHI. O BHI contém uma combinação de componentes nutricionais complexos, e como eles não foram avaliados separadamente, a maior biomassa não pode ser atribuída a um nutriente específico. Serrano-Fujarte *et al.* (2015) também observaram que o biofilme de *C. krusei* varia conforme o meio e o tempo de incubação, o que indica que a resposta da espécie não depende apenas da glicose.

As duas cepas de *C. tropicalis* apresentaram maior média no BHI, sem efeito consistente da glicose sobre o SDB. A diferença foi particularmente expressiva na ATCC 13803, cuja média no BHI (3,533) foi a mais alta entre todas as cepas e condições avaliadas. Weerasekera et al. (2016) mostraram que o meio de cultivo pode influenciar de modo distinto o crescimento, a adesão e a formação de biofilme dessa espécie. Zuza-Alves *et al.* (2017) destacaram a relevância clínica de *C. tropicalis* e sua capacidade de formar biofilmes. Essa capacidade, porém, não implica resposta idêntica de todas as linhagens a um mesmo meio, e o resultado da ATCC 13803 deve ser tratado como específico dessa cepa nas condições avaliadas.

Deve-se considerar que o cristal violeta quantifica o material aderido e retido após a lavagem, incluindo células e componentes extracelulares. Maior biomassa, portanto, não equivale automaticamente a maior número de células viáveis, maior atividade metabólica ou maior resistência a antifúngicos. Do mesmo modo, a ausência de diferença significativa não comprova equivalência entre as condições. Indica apenas que não foi detectada diferença nas condições e no tamanho amostral empregados.

Esses resultados indicam que a escolha do meio e da suplementação deve ser feita individualmente para cada cepa, considerando, além das médias e das comparações estatísticas, a reprodutibilidade do modelo e a capacidade de gerar biomassa suficiente para avaliar os efeitos das frações de *C. americana*. A padronização aqui realizada fornece a base para os ensaios de atividade antibiofilme e permitirá, conforme o delineamento, distinguir alterações na biomassa aderida de alterações na viabilidade ou na atividade metabólica.

Figura 11 - Avaliação da formação de biofilme de *Candida* spp. não-*albicans* em diferentes meios de cultivo. Cepas de *C. parapsilosis*: ATCC 22019 (A) e ATCC 90018 (B); *C. krusei* ATCC 6258 (C); e *C. tropicalis*: ATCC 750 (D) e ATCC 13803 (E).



Nota: Absorbância a 590 nm. Controle negativo: SF + BHI ou SDB sem glicose (0). Os dados estão expressos como média de experimentos realizados em triplicata, analisados por ANOVA de via única e teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras iguais sobre as barras indicam médias estatisticamente equivalentes, enquanto letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). Fonte: Elaboração própria (2026).

5.4. Atividade antibiofilme

Inicialmente foram investigadas as cepas *C. albicans* ATCC 64129, 10231, 44858, 90028 e 90029; *C. parapsilosis* ATCC 22019 e 90018; *C. krusei* ATCC 6258; e *C. tropicalis* ATCC 750 e 13803. Em algumas delas, porém, houve inconsistências na fixação e na retenção da biomassa nas microplacas, e vários poços tratados com as frações apresentaram densidade óptica (DO) superior à do controle negativo. Nessas condições, as diferenças não podiam ser interpretadas com segurança como efeito biológico dos tratamentos. Por isso, esses ensaios foram excluídos da análise quantitativa, como medida de controle de qualidade. *C. tropicalis* ATCC 13803 apresentou condições adequadas e foi selecionada para avaliar as frações de éter de petróleo, acetato de etila e aquosa (Figura 12).

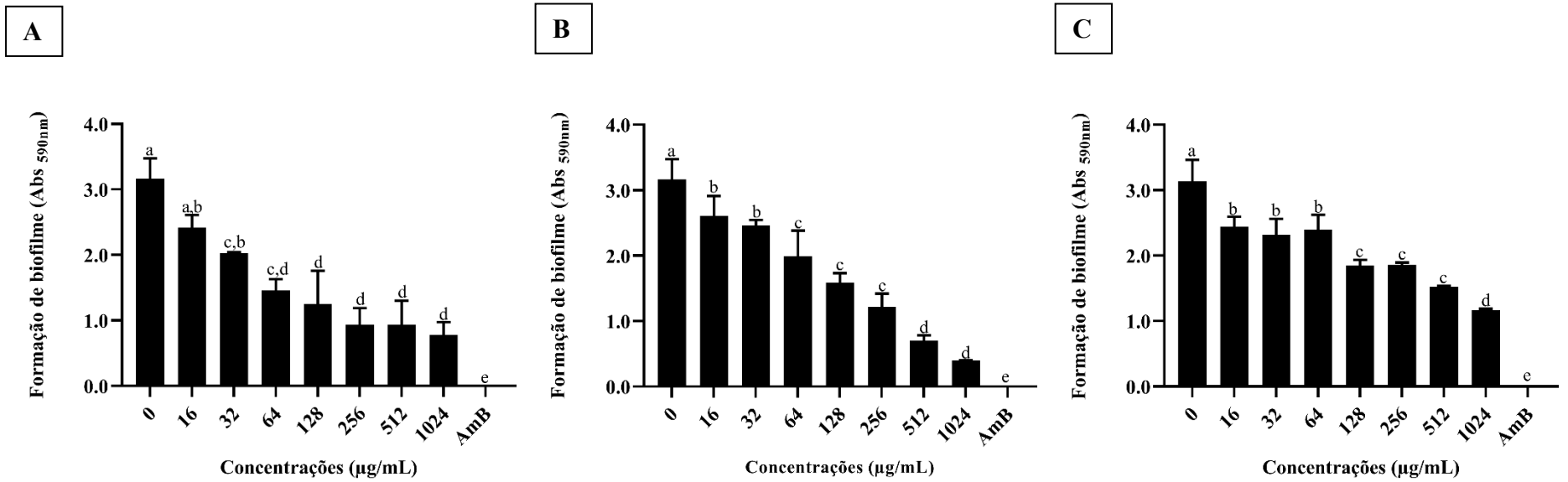
Fração de éter de petróleo (Figura 12 A). A ANOVA indicou diferenças significativas entre as condições ($F (8,18) = 38,70$; $p < 0,0001$; $R^2 = 0,9450$). O teste de Tukey mostrou que as concentrações de 32 a 1.024 µg/mL apresentaram DO significativamente inferior à do controle negativo (32 µg/mL: $p = 0,0017$; 64 a 1.024 µg/mL: $p < 0,0001$), enquanto 16 µg/mL não diferiu ($p = 0,0620$). Assim, 32 µg/mL foi a menor concentração associada à redução significativa da biomassa. A média do controle negativo foi 3,163, e as médias de 16, 32, 64, 128, 256, 512 e 1.024 µg/mL foram 2,416; 2,028; 1,454; 1,253; 0,9387; 0,9393 e 0,7817, respectivamente. Não houve diferença significativa entre 512 e 1.024 µg/mL ($p = 0,9978$), mas 1.024 µg/mL diferiu de 32 µg/mL ($p = 0,0006$). Todas as concentrações diferiram da anfotericina B ($p \leq 0,0245$).

Fração de acetato de etila (Figura 12 B). A ANOVA indicou diferenças significativas ($F (8,18) = 75,15$; $p < 0,0001$; $R^2 = 0,9709$). O Tukey mostrou DO significativamente inferior à do controle negativo de 32 a 1.024 µg/mL (32 µg/mL: $p = 0,0201$; 64 a 1.024 µg/mL: $p < 0,0001$), sem diferença em 16 µg/mL ($p = 0,0979$). Portanto, 32 µg/mL foi a menor concentração associada à redução significativa. A média do controle negativo foi 3,163, e as de 16, 32, 64, 128, 256, 512 e 1.024 µg/mL foram 2,603; 2,459; 1,990; 1,587; 1,215; 0,7053 e 0,3933. A redução foi progressiva: 1.024 µg/mL diferiu de 256 µg/mL ($p = 0,0052$), mas não de 512 µg/mL ($p = 0,7090$), e 512 µg/mL diferiu de 128 µg/mL ($p = 0,0026$). Em relação à anfotericina B, todas as concentrações diferiram ($p \leq 0,0089$), exceto 1.024 µg/mL ($p = 0,2520$).

Fração aquosa (Figura 12 C). A ANOVA indicou diferenças significativas ($F(8,19) = 107,4$; $p < 0,0001$; $R^2 = 0,9784$). Todas as concentrações, de 16 a 1.024 μg/mL, apresentaram DO significativamente inferior à do controle negativo (16 μg/mL: $p = 0,0017$; 32 μg/mL: $p = 0,0002$; 64 μg/mL: $p = 0,0008$; 128 a 1.024 μg/mL: $p < 0,0001$). Assim, 16 μg/mL, a menor concentração testada, foi a menor associada à redução significativa.

A média do controle negativo foi 3,130, e as de 16, 32, 64, 128, 256, 512 e 1.024 μg/mL foram 2,444; 2,318; 2,394; 1,848; 1,853; 1,524 e 1,162. Não houve diferença entre 16, 32 e 64 μg/mL ($p \geq 0,9873$), entre 128 e 256 μg/mL ($p > 0,9999$) nem entre 512 e 1.024 μg/mL ($p = 0,2146$). Concentrações maiores, porém, diferiram de menores: 128 e 256 μg/mL tiveram DO inferior à de 64 μg/mL ($p = 0,0152$ e $p = 0,0166$), e 1.024 μg/mL, inferior à de 128 e 256 μg/mL ($p = 0,0017$ e $p = 0,0015$). Todas as concentrações diferiram da anfotericina B ($p < 0,0001$).

Figura 12 - Determinação da atividade antibiofilme das frações de *Curatella americana* L. — (A) Éter de Petróleo, (B) Acetato de Etila e (C) Extrato Aquoso — contra *Candida tropicalis* ATCC 13803 por meio do ensaio com cristal violeta em placas de 96 poços.



Nota: Controle negativo (0): DMSO a 1%; Controle positivo: Anfotericina B (AmB). Os dados representam a média ± desvio padrão de experimentos realizados em triplicata indepente. A análise estatística foi realizada por ANOVA de via única (*one-way* ANOVA), seguida pelo teste de comparações múltiplas de Tukey ($p < 0{,}05$). Letras iguais sobre as barras indicam ausência de diferença estatisticamente significativa, enquanto letras diferentes representam médias significativamente distintas. Fonte: Elaboração própria (2026).

As três preparações reduziram a biomassa do biofilme de *C. tropicalis* ATCC 13803, com a fração aquosa eficaz em menor concentração (16 μg/mL) que as frações de éter de petróleo e de acetato de etila (32 μg/mL). É importante distinguir essa menor concentração com efeito significativo da concentração inibitória mínima (CIM), que é determinada por ensaios específicos de inibição do crescimento. Como o cristal violeta quantifica a biomassa aderida, esses valores devem ser descritos como a menor concentração testada associada à redução significativa da biomassa, e não como CIM ou concentração fungicida. A resposta foi, em geral, crescente com a concentração, mas não estritamente proporcional: por exemplo, não houve diferença entre 512 e 1.024 μg/mL nas três frações, de modo que dobrar a concentração não trouxe benefício adicional demonstrável.

Quanto à anfotericina B, a DO foi significativamente superior à do controle positivo na maioria das concentrações das três frações. A exceção foi a concentração de 1.024 μg/mL da fração de acetato de etila ($p = 0,2520$). Mesmo assim, a ausência de diferença estatística não permite afirmar equivalência de efeito, sobretudo com $n = 3$ por grupo, e a comparação não autoriza concluir superioridade ou equivalência terapêutica.

A diferença entre as frações pode estar relacionada à distribuição dos constituintes químicos durante o fracionamento, já que solventes de polaridades distintas extraem grupos diferentes de metabólitos. Como a composição química não foi determinada, essa interpretação é hipotética, e não é possível relacionar o efeito a uma classe específica de compostos.

A formação de biofilmes por *Candida* envolve adesão às superfícies, proliferação celular, organização das comunidades e produção de matriz extracelular. Em *C. tropicalis*, esses processos podem ser influenciados por fatores como a hidrofobicidade da superfície celular, a morfogênese e as condições ambientais (Gulati; Nobile, 2016). Condições que mimetizam o ambiente do hospedeiro também podem modificar a parede celular e a expressão de genes ligados à adesão e à formação de biofilmes (Souza et al., 2025). A redução da biomassa pode, portanto, refletir interferência em uma ou mais etapas do desenvolvimento do biofilme. Entretanto, o ensaio não avaliou adesão, filamentação, viabilidade celular nem composição da matriz, e não é possível determinar qual processo foi afetado.

Toledo et al. (2015) descreveram atividade antifúngica de extratos, frações e compostos da casca do caule de *C. americana* frente a espécies de *Candida*, incluindo *C. tropicalis*, com destaque para a fração de acetato de etila, cujas CIM variaram de 3,9 a 15,6 μg/mL. Esse estudo apoia o potencial antifúngico da espécie, mas os resultados não são diretamente comparáveis aos do presente trabalho, pois diferem o tecido vegetal (casca do caule e entrecasca), os procedimentos de extração e os modelos experimentais.

Além disso, o cristal violeta cora células e componentes da matriz, sem distinguir células vivas de mortas. A redução da DO poder, assim, refletir menor formação de biomassa, alteração na adesão ou perda de material aderido, e a confirmação de atividade fungicida exige ensaios de viabilidade ou de atividade metabólica.

Por fim, os resultados reforçam o potencial da entrecasca de *C. americana* L. como fonte de preparações associadas à redução da biomassa de biofilmes de *C. tropicalis* ATCC 13803. Justificam-se estudos adicionais de caracterização química, identificação dos constituintes bioativos e investigação dos mecanismos envolvidos, incluindo ensaios de viabilidade celular, adesão, formação de matriz extracelular e estrutura do biofilme. Esta avaliação estabelece uma base experimental para esses estudos, sem antecipar conclusões sobre mecanismos, eficácia clínica ou segurança terapêutica.

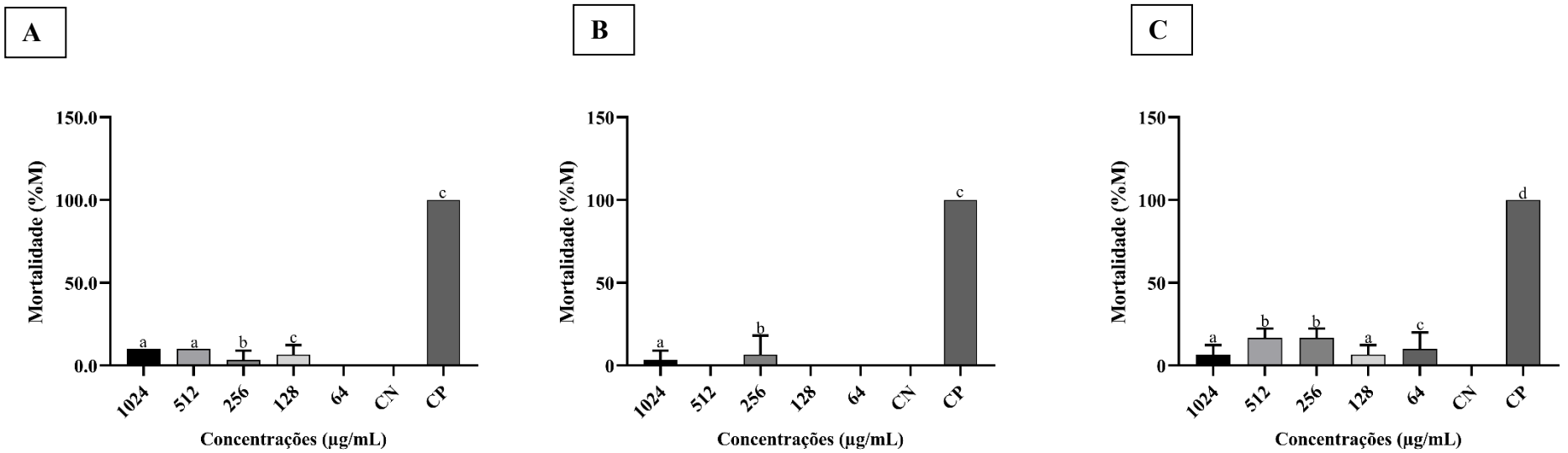
5.5. Toxicidade em *Artemia salina*

A toxicidade das frações de *Curatella americana* L. foi avaliada em náuplios de *Artemia salina* (três réplicas de 10 náuplios por concentração, n = 30) nas concentrações de 64 a 1.024 µg/mL, após 24 e 48 horas de exposição. No controle negativo (DMSO 1%, v/v) não houve mortalidade, e o controle positivo ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 1.000 µg/mL) causou 100% de mortalidade, o que valida o ensaio. A CL_{50} foi calculada por análise probit, com intervalo de confiança (IC) de 95%.

Em 24 horas, a mortalidade foi baixa com as três frações: de 0% a 10% (0 a 3 indivíduos mortos de 30) para o éter de petróleo (Figura 13 A), de 0% a 6,7% para o acetato de etila (Figura 13 B) e de 6,7% a 16,7% para a fração aquosa (Figura 13 C). Como nenhuma fração atingiu 50% de mortalidade, a CL_{50} em 24 horas foi superior a 1.024 µg/mL em todos os casos.

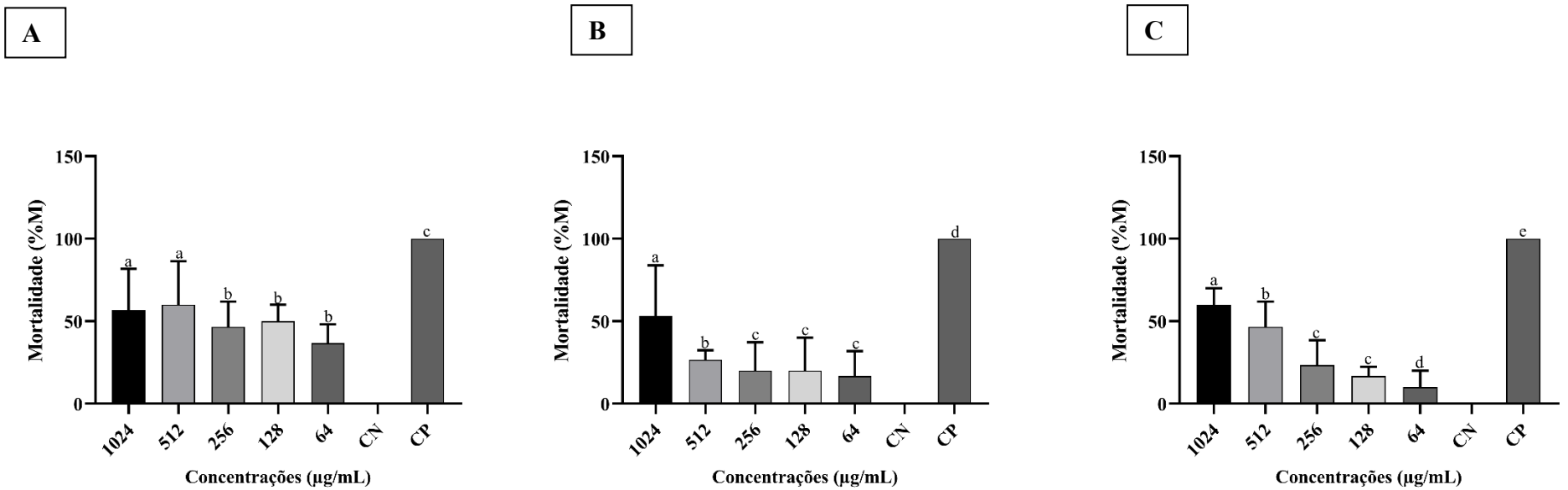
Após 48 horas, a mortalidade aumentou nas três frações (Figura 14). Para a fração de éter de petróleo, variou de 36,7% (11 indivíduos) em 64 µg/mL a 60,0% (18 indivíduos) em 512 µg/mL, com 56,7% (17 indivíduos) em 1.024 µg/mL, ou seja, sem aumento entre as duas maiores concentrações. A CL_{50} foi estimada em 302 µg/mL (IC 95%: 112–811 µg/mL) (Figura 14 A). Para a fração de acetato de etila, a mortalidade variou de 16,7% (64 µg/mL) a 53,3% (1.024 µg/mL), com aumento mais nítido apenas na maior concentração, e a CL_{50} foi estimada em 1.544 µg/mL (IC 95%: 452–5.278 µg/mL), valor acima da maior concentração testada e, portanto, obtido por extrapolação (Figura 14 B). Para a fração aquosa, a mortalidade aumentou com a concentração, de 10,0% (64 µg/mL) a 60,0% (1.024 µg/mL), e a CL_{50} foi estimada em 675 µg/mL (IC 95%: 412–1.106 µg/mL) (Figura 14 C).

Figura 13 - Avaliação da toxicidade aguda em náuplios de *Artemia salina* frente às frações de éter de petróleo (A), acetato de etila (B) e aquosa (C) do extrato de *C. americana* L. após 24 horas de exposição.



Nota: Os dados representam a porcentagem de mortalidade de náuplios de *A. salina* (três réplicas de 10 náuplios por concentração, de 64 a 1.024 µg/mL), expressa como média ± desvio padrão (n = 3). CN: controle negativo (DMSO 1%, v/v), sem mortalidade; CP: controle positivo ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 1.000 µg/mL), com 100% de mortalidade. A mortalidade foi baixa em todas as frações (máximo de 10,0% em A, 6,7% em B e 16,7% em C). Houve diferença significativa em relação ao CN apenas em A (512 e 1.024 µg/mL) e C (256 e 512 µg/mL) (* $p < 0,05$; teste de Dunnett). Em B, nenhuma concentração diferiu do CN. **Fonte:** Elaboração própria (2026).

Figura 14 - Avaliação da toxicidade aguda em náuplios de *Artemia salina* frente às frações de éter de petróleo (A), acetato de etila (B) e aquosa (C) do extrato de *C. americana* L. após 48 horas de exposição.



Nota: Os dados representam a porcentagem de mortalidade de náuplios de *A. salina* (três réplicas de 10 náuplios por concentração, de 64 a 1.024 µg/mL), expressa como média ± desvio padrão (n = 3). CN: controle negativo (DMSO 1%, v/v), sem mortalidade; CP: controle positivo ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 1.000 µg/mL), com 100% de mortalidade. A mortalidade aumentou com a concentração, com diferença significativa em relação ao CN a partir de 128 µg/mL em A, apenas em 1.024 µg/mL em B e a partir de 512 µg/mL em C (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; teste de Dunnett). A concentração letal mediana (CL_{50}), calculada por análise probit, foi de 302 µg/mL (IC 95%: 112–811) em A, 1.544 µg/mL (IC 95%: 452–5.278; valor extrapolado, acima da maior concentração testada) em B e 675 µg/mL (IC 95%: 412–1.106) em C.
Fonte: Elaboração própria (2026).

Pelos valores de CL_{50} em 48 horas, a ordem de toxicidade aparente foi éter de petróleo, aquosa e acetato de etila, da menor para a maior CL_{50}. Como os intervalos de confiança se sobrepõem, não foi possível demonstrar diferença estatística entre as frações. Valores de CL_{50} inferiores a 1.000 µg/mL são frequentemente associados à toxicidade em ensaios com *A. salina* (Meyer *et al.,* 1982).

Nesse critério, as frações de éter de petróleo e aquosa apresentaram toxicidade preliminar, enquanto a CL_{50} estimada para a fração de acetato de etila ficou acima desse limite. Essa estimativa, porém, é uma extrapolação e tem intervalo de confiança amplo, de modo que deve ser interpretada com cautela. A resposta da fração de éter de petróleo também foi achatada (platô em torno de 60% de mortalidade a partir de 512 µg/mL), o que torna a CL_{50} menos estável e pode estar relacionado a fatores como solubilidade da fração no meio, que não foram avaliados.

O aumento da mortalidade entre 24 e 48 horas nas três frações mostra a importância de avaliar diferentes tempos de exposição em ensaios de triagem toxicológica. As diferenças observadas entre as frações podem estar relacionadas à distribuição dos constituintes químicos durante o fracionamento líquido-líquido: solventes de polaridades distintas favorecem a extração de grupos diferentes de compostos, produzindo frações com composições químicas distintas.

Entretanto, como não foi realizada caracterização química, não é possível identificar os compostos responsáveis pelas respostas observadas nem estabelecer relação causal entre polaridade, composição química e toxicidade. Por fim, como a resposta em um único modelo de triagem não permite, isoladamente, estabelecer a segurança para aplicações terapêuticas, os resultados exigem confirmação em modelos complementares.

6. CONCLUSÃO

Na microdiluição em caldo, não foi possível determinar a concentração inibitória mínima (CIM) das frações nas condições avaliadas. A fração de éter de petróleo foi a única a reduzir o crescimento de *Candida tropicalis* ATCC 750, nas concentrações de 512 e 1.024 μg/mL, o que caracteriza inibição parcial. As frações de acetato de etila e aquosa não apresentaram efeito nas concentrações testadas.

Nos ensaios antibiofilme, realizados com *C. tropicalis* ATCC 13803 (as demais cepas foram excluídas por inconsistências na fixação e na retenção da biomassa nas microplacas), as três frações da entrecasca de *Curatella americana* L. reduziram significativamente a biomassa do biofilme. A fração aquosa foi eficaz a partir de 16 μg/mL, e as frações de éter de petróleo e de acetato de etila, a partir de 32 μg/mL. A anfotericina B, controle positivo, serviu de parâmetro de referência para interpretar os resultados. Como o cristal violeta quantifica a biomassa aderida, não é possível determinar se a redução decorreu de alterações na adesão, na organização do biofilme, na matriz extracelular ou na viabilidade celular.

Na avaliação com náuplios de *Artemia salina*, a mortalidade foi baixa em 24 horas e aumentou em 48 horas de exposição. As CL_{50} em 48 horas foram de 302 μg/mL (IC 95%: 112–811) para a fração de éter de petróleo, 675 μg/mL (IC 95%: 412–1.106) para a aquosa e 1.544 μg/mL (IC 95%: 452–5.278), valor extrapolado, para a de acetato de etila. Assim, as frações de éter de petróleo e aquosa apresentaram toxicidade preliminar no modelo empregado (CL_{50} < 1.000 μg/mL), enquanto a de acetato de etila apresentou CL_{50} acima desse limite. Como os intervalos de confiança se sobrepõem, não é possível afirmar diferença estatística entre as frações. Esses resultados ressaltam a importância de investigar conjuntamente a atividade biológica e os possíveis efeitos tóxicos das preparações vegetais.

As diferenças entre as frações quanto à atividade antibiofilme e à toxicidade podem estar relacionadas à distribuição dos constituintes químicos durante o fracionamento. Essa possibilidade permanece hipotética, pois as frações não foram caracterizadas quimicamente nem tiveram seus constituintes isolados.

Em conjunto, os resultados ampliam o conhecimento sobre o potencial biológico da entrecasca de *C. americana* L., especialmente quanto à atividade antibiofilme frente a *C. tropicalis* ATCC 13803, e justificam a investigação fitoquímica e biológica desse material, voltada à identificação de constituintes bioativos e à compreensão dos fatores associados a essa atividade. Os dados atuais, contudo, não permitem afirmar eficácia ou segurança para uso clínico.

PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS

Considerando os resultados obtidos, recomenda-se a realização de estudos complementares que esclareçam a composição química das frações e os fatores relacionados às atividades biológicas observadas. Inicialmente, sugere-se a caracterização química das frações de éter de petróleo, acetato de etila e aquosa, seguida de fracionamento bioguiado das preparações com atividade antibiofilme, para identificar e isolar os constituintes associados aos efeitos observados.

Recomenda-se também avaliar a ação das frações em biofilmes em diferentes estágios de desenvolvimento, incluindo biofilmes previamente estabelecidos. Ensaios de viabilidade celular, adesão, produção de matriz extracelular e organização estrutural poderão esclarecer os processos envolvidos na redução da biomassa observada pelo cristal violeta.

Como a CIM não foi determinada, sugere-se repetir a avaliação antifúngica com faixas de concentração mais amplas ou com métodos complementares, como a contagem de unidades formadoras de colônia. Outra perspectiva é investigar possíveis interações entre as frações e antifúngicos convencionais (efeitos aditivos, sinérgicos ou antagônicos), além de ampliar os estudos para outras cepas de *C. tropicalis* e outras espécies de *Candida*, a fim de verificar se a atividade se estende a diferentes linhagens.

Por fim, recomenda-se aprofundar a avaliação toxicológica com modelos complementares e com maior número de réplicas, incluindo concentrações mais altas para a fração de acetato de etila, cuja CL_{50} foi estimada por extrapolação. A integração dos resultados fitoquímicos, microbiológicos e toxicológicos poderá esclarecer o potencial da entrecasca de *C. americana* L. como fonte de constituintes com atividade antibiofilme e orientar pesquisas posteriores.

REFERÊNCIAS

ABADA, Emad *et al.* Review: green synthesis of silver nanoparticles by using plant extracts and their antimicrobial activity. **RSC Advances**, v. 11, n. 5, p. 2804, 2021.

AGHAZADEH, M. *et al.* Pesquisa dos efeitos antibiofilmes e antimicrobianos do *Zingiber officinale* (estudo *in vitro*). **Jundishapur Journal of Microbiology**, v. 9, n. 2, e30167, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.5812/jjm.30167. Acesso em: 22 jun. 2026.

ALABI, P. E. *et al.* Pequenas moléculas restauram a atividade do azol contra isolados de *Candida* tolerantes e resistentes a medicamentos. **mBio**, v. 14, n. 4, e00479-23, 2023. DOI: https://doi.org/10.1128/mbio.00479-23.

ALMIRANTE, B. *et al.* Epidemiology, risk factors, and prognosis of *Candida parapsilosis* bloodstream infections: case-control population-based surveillance study of patients in Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 5, p. 1681-1685, 2006.

ALBUQUERQUE, B. R. *et al.* Catechin-based extract optimization obtained from *Arbutus unedo* L. fruits using maceration/microwave/ultrasound extraction techniques. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 404-415, 2017.

ALEXANDRE-MOREIRA, M. *et al.* Studies on the anti-inflammatory and analgesic activity of *Curatella americana* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, n. 2, p. 171-177, 1999. PMID: 10619381.

ALMEIDA, M. Z. **Plantas medicinais**: abordagem histórico-contemporânea. Salvador: EDUFBA, 2011. p. 34-66. (Plantas Medicinais: Online, n. 3).

ALVAREZ, L. *et al.* Evaluation of biofilm formation and antimicrobial susceptibility (drug resistance) of *Candida albicans* isolates. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 56, p. 353–364, 2025. DOI: https://doi.org/10.1007/s42770-024-01558-w.

ALVES, C. F. S. *et al.* Antimicrobial, antitrypanosomal and antibiofilm activity of *Equisetum hyemale*. **Microbial Pathogenesis**, v. 101, p. 119-125, 2016.

AMARAL, D. D. *et al. Curatella americana* L. (Dilleniaceae): Primeira ocorrência nas restingas do litoral da Amazônia. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 14, n. 4, 2016.

AMOROZO, M. C. M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Leverger, MT, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 16, n. 2, p. 189-203, 2002.

ARANA, L. *et al.* Lipid-based drug delivery systems as emerging tools to overcome antifungal resistance. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 27, n. 10, p. 4487, 2026. DOI: 10.3390/ijms27104487.

ARAÚJO, D.; HENRIQUES, M.; SILVA, S. Portrait of *Candida* Species Biofilm Regulatory Network Genes. **Trends in Microbiology**, v. 25, n. 1, p. 62-75, jan. 2017.

ARENDRUP, M. C. *et al.* **Method for the Determination of Broth Dilution Minimum Inhibitory Concentrations of Antifungal Agents for Yeasts: EUCAST E.DEF 7.3.1**. [S. l.]: Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (AFST) of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), jan. 2017. Disponível em: https://www.eucast.org. Acesso em: 1 dez. 2024.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 16530**: Ecotoxicologia aquática — Toxicidade aguda — Método de ensaio com *Artemia* sp. (Crustacea, Brachiopoda). Rio de Janeiro: ABNT, 2016. 16 p.

AZEVEDO, Maria M. *et al.* The effect of antibacterial and non-antibacterial compounds alone or associated with antifungals upon fungi. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 669, 2015.

AZMIR, J. *et al.* Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426-436, 2013.

AZWANIDA, N. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. **Medicinal & Aromatic Plants**, v. 4, n. 3, p. 196, 2015. DOI: https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196.

BALOUIRI, Mounyr; SADIKI, Moulay; IBNSOUDA, Saad Koraichi. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 6, n. 2, p. 71-79, 2016.

BARBOSA, Cecília Soares. **Avaliação alelopática e caracterização fitoquímica do extrato em diclorometano de folhas de *Curatella americana* L. (Lixeira)**. 2011. 51 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011. Disponível em: https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/17352. Acesso em: 18 maio 2025.

BARBOSA, R. I. *et al*. The "Lavrados" of Roraima: biodiversity and conservation of Brazil's Amazonian savannas. **Functional Ecosystems and Communities**, v. 1, p. 29-41, 2007.

BASSO, Sabrina. **Avaliação do efeito da água ozonizada em diferentes concentrações em biofilmes de *Candida albicans* – estudo *in vitro***. 2022. 37 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2022.

BERKOW, E. L.; LOCKHART, S. R.; OSTROSKY-ZEICHNER, L. Antifungal Susceptibility Testing: Current Approaches. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 33, n. 3, e00069-19, 2020. DOI: https://doi.org/10.1128/CMR.00069-19.

BHATTACHARYA, Somanon; SAE-TIA, Sutthichai; FRIES, Bettina C. Candidiasis and mechanisms of antifungal resistance. **Antibiotics**, v. 9, n. 6, p. 312, 2020. DOI: https://doi.org/10.3390/antibiotics9060312.

BRAECHER, I. R. S. A. *et al*. Fármacos empregados para o tratamento de candidíase oral: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 76, p. 05, 2019.

BRAGA, M. T.; ROSSETI, I. B.; COSTA, M. S. Efeito dos compostos organocalcogêneos $(PhSe)_2$ E $(p\text{-}Cl\text{-}PhSe)_2$ sobre a viabilidade do biofilme formado por *Candida albicans*. **Revista Univap**, v. 22, n. 40, p. 899, 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 10, de 9 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2010. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/definicao.htm. Acesso em: 03 nov. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.048, de 3 de setembro de 2009. Aprova o Regulamento do Sistema Único de Saúde (SUS). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 03 set. 2009.

BRCAST – COMITÊ BRASILEIRO DE TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS. **Método de microdiluição em caldo para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de agentes antifúngicos para leveduras**: EUCAST – Documento Definitivo E.DEF 7.4, outubro de 2023. Versão BrCAST, válida a partir de 13 nov. 2024. São Paulo: BrCAST, 2023.

BRODA, M. Natural compounds for wood protection against fungi—A review. **Molecules**, v. 25, n. 15, p. 3538, 2020. DOI: 10.3390/molecules25153538.

CAROLUS, Hans *et al*. Amphotericin B and other polyenes—Discovery, clinical use, mode of action and drug resistance. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 4, p. 321, 2020. DOI: 10.3390/jof6040321.

CANUTO, J. Z. **Filogeografia de *Curatella americana* L. (Dilleniaceae): uma espécie arbórea das savanas da Amazônia e Brasil Central**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2011.

CARNEIRO, J. N. P. *et al*. GC/MS analysis and antimicrobial activity of the *Piper mikanianum* (Kunth) Steud. essential oil. **Food and Chemical Toxicology**, n. 135, p. 1-8, 2020.

CARNEIRO, Joara Nályda Pereira *et al*. Fungal biofilms and pleomorphism under the effect of sesquiterpenes valencene and nootkatone: an *in vitro* and *in silico* approach. **Microbial Pathogenesis**, v. 219, p. 108725, 2026.

CALABRESE, Edward J.; BALDWIN, Linda A. Hormesis: the dose-response revolution. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 43, n. 1, p. 175-197, 2003.

CALABRESE, Edward J. Historical foundations of wound healing. **Wound Repair and Regeneration**, v. 21, n. 2, p. 180-193, 2013. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2012.00842.x.

CARVALHO, Wendell Vilhena de. **Variação fenotípica em *Curatella americana* L. (Dilleniaceae) em tipologias abertas da Amazônia Oriental**. 2020. 122 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2020.

Disponível em: http://repositorio.ufra.edu.br/jspui/handle/123456789/1061. Acesso em: 5 jun. 2025.

CASAO, T. D. R. L. *et al. Croton urucurana* Baillon stem bark ointment accelerates the closure of cutaneous wounds in knockout IL-10 mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 261, p. 113042, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113042. Acesso em: 08 jan. 2025.

CASTRO, Antonio Alberto Jorge Farias *et al.* **Tesouros Verdes do Cerrado**: Conhecendo a Diversidade Botânica do Parque Nacional de Sete Cidades. São José dos Pinhais, PR: Seven Editora, 2024. 1 PDF. E-book. ISBN 978-65-6109-054-4.

CIUREA, Cristina Nicoleta *et al*. *Candida* and Candidiasis—Opportunism Versus Pathogenicity: A Review of the Virulence Traits. **Microorganisms**, v. 8, n. 6, p. 857, 2020.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts**: CLSI 2017. 4th ed. Pennsylvania: CLSI, 2017.

CONTE, Júlia. **Uma revisão das novas alternativas terapêuticas e principais formulações tópicas utilizadas no tratamento da candidíase vaginal**. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2021. Disponível em: https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/223486/TCC%250Julia%20Conte%20-%20Vers%C3%A3o%20final.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 13 set. 2024.

COSTA, Amanda Soares. **Atividade antimicrobiana In Vitro de uma esponja marinha (*Cinachyrella* sp.) sobre patógenos orais**. 2017. 48 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.

COSTA, E. S. *et al.* Antimicrobial activity of some medicinal plants of the Cerrado, Brazil. **Phytotherapy Research**, v. 22, n. 5, p. 705-707, 2008. DOI: https://doi.org/10.1002/ptr.2397.

COSTA, Maria Clara Bezerra *et al.* Efeito da suplementação de catequinas na perda de peso em indivíduos obesos: uma Revisão Sistemática. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, e28510313185, 2021. DOI: http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i3.13185.

COUTINHO, Larissa de Cássia Moreira *et al*. Metabólitos secundários da espécie *Curatella americana* Linnaeus (Dilleniaceae). In: **Plantas medicinais do estado do Amapá**: dos relatos da população à pesquisa científica. [S. l.]: Editora Científica Digital, 2021. cap. 14, p. 188-199. DOI: https://doi.org/10.37885/210303485.

CZAJKA, K. M. *et al*. Molecular Mechanisms Associated with Antifungal Resistance in Pathogenic *Candida* Species. **Cells**, v. 12, n. 22, p. 2655, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.3390/cells12222655. Acesso em: 01 dez. 2024.

CZAJKA, Karolina M. *et al*. Molecular Mechanisms Associated with Antifungal Resistance in Pathogenic *Candida* Species. **Cells**, v. 12, n. 21, p. 2555, 1 nov. 2023.

DANTAS, Thainá dos Santos *et al.* Bioactive plant compounds as alternatives against antifungal resistance in the *Candida* strains. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 17, n. 6, p. 687, 2025. DOI: https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17060687. Acesso em: 10 ago. 2026.

DALMOLIN, A. C. *et al.* Is the dry season an important driver of phenology and growth for two Brazilian savanna tree species with contrasting leaf habits? **Plant Ecology**, v. 216, n. 3, p. 407-417, 2015.

DE TOLEDO, C. E. M. *et al.* Antifungal properties of crude extracts, fractions, and purified compounds from bark of *Curatella americana* L. (Dilleniaceae) against *Candida* species. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, p. 1-9, 2015.

DE TOLEDO, Cleyton E. M. *et al.* Antimicrobial and cytotoxic activities of medicinal plants of the Brazilian cerrado, using Brazilian cachaa as extractor liquid. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, n. 2, p. 420–425, 27 jan. 2011.

DE MENEZES FILHO, Antonio Carlos Pereira. Identificação das classes metabólicas secundárias em extratos etanólicos foliares de *Byrsonima verbascifolia*, *Cardiopetalum calophyllum*, *Curatella americana* e *Qualea grandiflora*. **Colloquium Agrariae**, v. 15, n. 4, p. 39–50, 2019. ISSN: 1809-8215.

DE OLIVEIRA SANTOS, G. C. *et al. Candida* Infections and Therapeutic Strategies: Mechanisms of Action for Traditional and Alternative Agents. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1351, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01351. Acesso em: 01 dez. 2024.

DELMA, F. Z. *et al.* Molecular Mechanisms of 5-Fluorocytosine Resistance in Yeasts and Filamentous Fungi. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 11, p. 909, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.3390/jof7110909. Acesso em: 10 jun. 2026.

DHANANI, T. *et al.* Evaluation of extraction methods and phytochemical analysis of medicinal plant: *Withania somnifera*. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. S1193–S1199, 2017. DOI: https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.02.019.

DIAS, Deusinete Silva; SOUZA, Soraia de Fátima Carvalho. **Manual de procedimentos operacionais padrão**: para atendimento dos usuários do SUS nas Unidades de Especialidades Odontológicas do Maranhão – SORRIR. Organizadores: Cyrene Piazera Silva Costa, Susilena Arouche Costa, Silas Alves Costa. São Luís: EDUFMA, 2022. 85 p. E-book. Disponível em: http://www.edufma.ufma.br/index.php/loja/. Acesso em: 01 dez. 2024. ISBN: 978-65-5363-091-8.

DOMINGUEZ, J. A. J. *et al.* Antifungal chemicals promising function in disease prevention, method of action and mechanism. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e275055, 2023.

DOS SANTOS, Daniel Sousa; RODRIGUES, Mayara Mikelle Farias. Atividades farmacológicas dos flavonoides: um estudo de revisão. **Estação Científica (UNIFAP)**, Macapá, v. 7, n. 3, p. 29-35, set./dez. 2017.

DOS SANTOS BARBOSA, Robson *et al.* α-Glucosidase inhibitory properties of leaves and bark extracts of *Curatella americana* L. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 11, n. 4, p. e3811427052, 2022.

DUARTE, D. M. *et al*. Germinação de sementes de lixeira (*Curatella americana* L.) com diferentes colorações no tegumento. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA; JORNADA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO; SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 9., 6., 2011, Goiás. **Anais [...]**. Goiás: Universidade Estadual de Goiás, 2011.

EDEOGA, H. O.; OKWU, D. E.; MBAEBIE, B. O. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. **African Journal of Biotechnology**, v. 4, n. 7, p. 685-688, 2005.

EKPAKPALE, D. O. *et al*. Fungal diversity and aflatoxins in maize and rice grains and cassava-based flour (Pupuru) from Ondo State, Nigeria. **Journal of Fungi**, Basel, v. 7, n. 8, p. 635, 2021. DOI: https://doi.org/10.3390/jof7080635.

ESCRIBANO, P.; GUINEA, J. Fluconazole-resistant *Candida parapsilosis*: A new emerging threat in the fungi arena. **Frontiers in Fungal Biology**, v. 3, p. 1010782, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3389/ffunb.2022.1010782. Acesso em: 08 jun. 2025.

ENE, I. V. *et al*. Growth of *Candida albicans* cells on the physiologically relevant carbon source lactate affects their recognition and phagocytosis by immune cells. **Infection and Immunity**, v. 81, n. 1, p. 238-248, 2013. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23115042. Acesso em: 26 jul. 2026.

EREK, T. C. *et al*. Biofilm formation by blood isolates of *Candida parapsilosis* sensu stricto in the presence of a hyperglycidic solution at comparable concentrations of total parenteral nutrition. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 52, p. e-20180182, 2019. DOI: https://doi.org/10.1590/0037-8682-0182-2018.

FARIA-GONÇALVES, P. *et al*. Virulence Factors as Promoters of Chronic Vulvovaginal Candidosis: A Review. **Mycopathologia**, v. 186, p. 755–773, 2021. DOI: 10.1007/s11046-021-00592-8.

FALEYE, Oluwatosin Oluwaseun *et al*. Fluorene derivatives as potent antifungal and antibiofilm agents against fluconazole-resistant *Candida albicans*. **Biofilm**, v. 10, p. 100319, 2025. DOI: 10.1016/j.bioflm.2025.100319.

FELFILI, J. M. *et al*. Composição florística e fitossociologia do cerrado sentido restrito no município de Água Boa – MT. **Acta Botanica Brasilica**, v. 16, n. 1, p. 103-112, 2002.

FISHER, M. C. *et al*. Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, n. 1, p. 557-571, 2022. DOI: 10.1038/s41579-022-00720-1.

FIK-JASKÓŁKA, M. *et al*. Antimicrobial metabolites of Caucasian medicinal plants as alternatives to antibiotics. **Antibiotics**, v. 13, n. 6, p. 487, 2024. DOI: 10.3390/antibiotics13060487.

FU, Leiwen *et al*. Different efficacies of common disinfection methods against *Candida auris* and other *Candida* species. **Journal of Infection and Public Health**, v. 13, n. 5, p. 730-736, 2020.

FUJISHIMA, M. A. T. *et al*. Chemical profiling of *Curatella americana* Linn leaves by UPLC-HRMS and its wound healing activity in mice. **PLoS One**, v. 15, n. 1, p. e0225514, 2020.

GAO, Y. *et al*. The progress and future of the treatment of *Candida albicans* infections based on nanotechnology. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 22, p. 568, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1186/s12951-024-02841-6. Acesso em: 9 dez. 2024.

GARCÍA-HERNÁNDEZ, Jonathan *et al*. Flavonoids as a Potential Antifungal Alternative Against *Candida auris* (*Candidozyma auris*) from Clades III and IV. **Journal of Fungi**, v. 12, n. 3, p. 179, 2026. Disponível em: https://doi.org/10.3390/jof12030179. Acesso em: 26 jul. 2026.

GASPARETTO, C. M. **Propriedades biológicas e toxicológicas de *Bauhinia forficata* Link (Fabaceae)**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia e Bioquímica, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2014.

GONÇALVES, Thaís Paula Rodrigues *et al*. Potencial antifúngico e antibacteriano de extratos vegetais da região de Divinópolis/MG. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 3, p. 25-37, 2018.

GUERRERO, M. F. *et al*. Assessment of the antihypertensive and vasodilator effects of ethanolic extracts of some Colombian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 80, n. 1, p. 37-42, 2002.

GURAJALA, Swathi; CHALLAPILLA, Meera. A quiet but growing threat: global perspectives on antifungal resistance and future therapeutic approaches. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 58, n. 1, p. 35-45, 2026. DOI: 10.4103/ijp.ijp_1129_25.

HAMILL, Richard J. Amphotericin B formulations: a comparative review of efficacy and toxicity. **Drugs**, v. 73, n. 9, p. 919-934, 2013.

HASSAN, Yahaya; CHEW, Shu Yih; THAN, Leslie Thian Lung. *Candida glabrata*: pathogenicity and resistance mechanisms for adaptation and survival. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 8, p. 667, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.3390/jof7080667. Acesso em: 10 nov. 2024.

HASAN, Md Mahmudul *et al*. Isolation, characterization, and biological evaluation of phytoconstituents from *Garcinia xanthochymus* stem bark. **Phytomedicine Plus**, v. 6, n. 3, p. 100989, 2026. DOI: 10.1016/j.phyplu.2026.100989.

HENRIQUES, Shayanne Vanessa Correia; ALMEIDA, Sheylla Susan Moreira da Silva de. Identificação do caráter medicinal da espécie *Curatella americana* por meio das folhas. **Estação Científica**, Macapá, v. 3, n. 2, p. 89-97, jul./dez. 2013. Disponível em: http://periodicos.unifap.br/index.php/estacao. Acesso em: 17 maio 2025.

HENRIQUES, S. V. C.; ALMEIDA, S. S. M. S. Identificação do caráter medicinal da espécie *Curatella americana* por meio das folhas. **Estação Científica**, v. 3, n. 2, p. 89-97, 2013.

HIRUMA-LIMA, Clélia Akiko *et al*. The anti-ulcerogenic effects of *Curatella americana* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 121, n. 3, p. 425–432, 2009. Disponível em: Repositório Institucional UNESP. Acesso em: 18 maio 2025.

HONG, H. *et al*. *Candida auris* infection; diagnosis, and resistance mechanism using high-throughput sequencing technology: a case report and literature review. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 13, p. 1211626, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1211626

HONG, H. *et al*. *Candida auris* infection; diagnosis, and resistance mechanism using high-throughput sequencing technology: a case report and literature review. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 13, p. 1211626, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1211626. Acesso em: 12 dez. 2024.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Manual técnico da vegetação brasileira**: sistema fitogeográfico, inventário das formações florestais e campestres, técnicas e manejo de coleções botânicas, procedimentos para mapeamentos. Rio de Janeiro: IBGE, Diretoria de Geociências, 2012. 271 p. (Manuais Técnicos de Geociências, n. 1).

JALIL, J. *et al*. Inhibitory Effect of Triterpenoids from *Dillenia serrata* (Dilleniaceae) on Prostaglandin E2 Production and Quantitative HPLC Analysis of Its Koetjapic Acid and Betulinic Acid Contents. **Molecules**, v. 20, n. 2, p. 3206-3220, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.3390/molecules20023206. Acesso em: 17 maio 2025.

JOVITO, V. de C. *et al*. Anticandida and antibiofilm activities of extract from *Schinopsis brasiliensis* Engl. against *Candida* spp. **Brazilian Oral Research**, v. 38, p. e016, 2024.

JÚNIOR, M. Z. A. *et al*. Efeito do microclima no intercâmbio gasoso potencial de cambará (*Vochysia divergens* Pohl) e lixeira (*Curatella americana* L.) em área de Cerrado. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n. 1, 2011.

KAUR, J.; NOBILE, C. J. Antifungal drug-resistance mechanisms in *Candida* biofilms. **Current Opinion in Microbiology**, v. 71, p. 102237, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.mib.2022.102237. Acesso em: 1 dez. 2024.

KEANE, S. *et al*. Systematic review on the first line treatment of amphotericin B in critically ill adults with candidemia or invasive candidiasis. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 16, n. 11, p. 839-847, 2018.

KISS, A. *et al*. The cytotoxic properties of extreme fungi's bioactive components—an updated metabolic and omics overview. **Life**, v. 13, n. 8, p. 1623, 2023. DOI: 10.3390/life13081623.

KONEČNÁ, K. *et al*. The impact of cultivation media on the *in vitro* biofilm biomass production of *Candida* spp. **Current Microbiology**, v. 78, p. 2104–2111, 2021. DOI: https://doi.org/10.1007/s00284-021-02452-6.

KULLBERG, B. J.; ARENDRUP, Maiken C. Invasive candidiasis. **New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 15, p. 1445-1456, 2015.

KWAMIN, F. *et al*. Distribution of *Candida* species among HIV-positive patients with oropharyngeal candidiasis in Accra, Ghana. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 7, n. 01, p. 041-045, 15 jan. 2013. Disponível em: https://doi.org/10.3855/jidc.2442. Acesso em: 02 dez. 2024.

KOWALSKI, Layza *et al*. Atividade antimicrobiana de flavonoides: Uma revisão de literatura. **Revista Interdisciplinar em Ciências da Saúde e Biológicas**, Erechim, v. 4, n. 1, p. 51-65, 2020.

LARA, H. H. *et al*. Synergistic antifungal effect of chitosan-stabilized selenium nanoparticles synthesized by pulsed laser ablation in liquids against *Candida albicans* biofilms. **International Journal of Nanomedicine**, v. 13, n. 3, p. 2697-2708, maio 2018.

LEWIS, M. A. O.; WILLIAMS, D. W. Diagnosis and management of oral candidosis. **British Dental Journal**, v. 223, n. 9, p. 675-681, 10 nov. 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2017.886. Acesso em: 02 dez. 2024.

LI, Yanqun *et al*. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 148, p. 80-89, 2020. DOI: 10.1016/j.plaphy.2020.01.006.

LIMA, Ana Luísa de Araújo *et al*. Atividade antifúngica do geraniol contra *Candida* não-albicans de importância clínica em pediatria. **Revista UNINGÁ**, Maringá, v. 55, n. 3, p. 161-169, jul./set. 2018.

LIMA, L. D. *et al*. Anti-Zika Virus Activity and Isolation of Flavonoids from Ethanol Extracts of *Curatella americana* L. Leaves. **Molecules**, v. 28, n. 6, p. 2546, 2023. DOI: https://doi.org/10.3390/molecules28062546.

LIMA, Cinthia C.; LEMOS, Rosangela P. L.; CONSERVA, Lucia M. Dilleniaceae family: an overview of its ethnomedicinal uses, biological and phytochemical profile. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 3, n. 2, p. 181-204, 2014.

LIMA, G. M. E. *et al*. Identification and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from the urine of patients in a university hospital in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, p. 1–8, 2017.

LIONAKIS, M. S.; NETEA, M. G. *Candida* and Host Determinants of Susceptibility to Invasive Candidiasis. **PLoS Pathogens**, v. 9, n. 1, p. e1003079, 3 jan. 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003079. Acesso em: 12 dez. 2024.

LIU, Shuyuan *et al*. Combination of fluconazole with non-antifungal agents: a promising approach to cope with resistant *Candida albicans* infections and insight into new antifungal agent discovery. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 43, n. 5, p. 395-402, 2014.

LI, Y. *et al*. New antifungal strategies and drug development against WHO critical priority fungal pathogens. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 15, p. 1662442, 2025. DOI: 10.3389/fcimb.2025.1662442.

LOHSE, M. B. *et al*. Development and regulation of single-and multi-species *Candida albicans* biofilms. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 1, p. 19, 2018.

LOPES, José Pedro; LIONAKIS, Michail S. Pathogenesis and virulence of *Candida albicans*. **Virulence**, v. 13, n. 1, p. 89-121, 2022.

LOPES, R. H. O. *et al*. Antioxidant and Hypolipidemic Activity of the Hydroethanolic Extract of *Curatella americana* L. Leaves. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1-6, 2016. PMID: 27247703.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. (ed.). **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

MACIEL, M. A. M. *et al*. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, p. 429-438, 2002. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000300016. Acesso em: 07 out. 2024.

MACIAS-PAZ, Ignacio Uriel *et al*. *Candida albicans* the main opportunistic pathogenic fungus in humans. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 55, n. 2, 2023.

MARTINS, Alessandra Suriani *et al*. Atividade do *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão), *Nicotiana tabacum* (Folha de Fumo) e *Achillea millefolium* L. (Mil-Folhas) como inibidor farmacológico natural contra *Candida albicans*. **Ciência ET Praxis**, v. 12, n. 24, p. 07-12, 2019.

MARTINS, S. A. *et al*. Phytochemical prospection and biological activity of the ethanolic extract of the leaves of *Curatella americana* L. (Dilleniaceae). **International Journal of Development Research**, v. 12, n. 5, p. 55735–55738, 2022.

MARSHALL, K. C. Microbial adhesion in biotechnological processes. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 5, n. 3, p. 296-301, 1994. DOI: https://doi.org/10.1016/0958-1669(94)90032-9.

MALINOVSKÁ, Z.; ČONKOVÁ, E.; VÁCZI, P. Biofilm formation in medically important *Candida* species. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 10, p. 955, 2023. DOI: https://doi.org/10.3390/jof9100955. Disponível em: https://doi.org/10.3390/jof9100955. Acesso em: 26 jul. 2026.

MATHÉ, L.; VAN DIJCK, P. Recent insights into *Candida albicans* biofilm resistance mechanisms. **Current Genetics**, v. 59, p. 251-264, 2013. DOI: https://doi.org/10.1007/s00294-013-0400-3.

MECCATTI, Vanessa Marques. **Análise do potencial antifúngico resultante da combinação de extratos de plantas sobre *Candida* spp**. 2021. 68 f. Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal) - Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), São José dos Campos, 2021.

MELO, J. T. *et al*. Coleta, propagação e desenvolvimento inicial de espécies do Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (ed.). **Cerrado**: ambiente e flora. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. p. 319-342.

MEYER, B. N. *et al*. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plants constituents. **Planta Médica**, v. 45, n. 1, p. 31-34, 1982.

MENDES DE TOLEDO, Cleyton Eduardo *et al*. Antifungal properties of crude extracts, fractions, and purified compounds from bark of *Curatella americana* L. (Dilleniaceae) against *Candida* species. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, n. 1, p. 673962, 2015.

MENDES, A. G. G. *et al*. Ellagic acid as a promising antifungal agent: a review of mechanisms, synergy, and formulation strategies. **Antibiotics**, v. 15, n. 1, p. 72, 2026. DOI: 10.3390/antibiotics15010072.

MENDONÇA, R. C. *et al*. Flora vascular do Cerrado: checklist com 12.356 espécies. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. (ed.). **Cerrado**: ecologia e flora. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. v. 2, p. 422-442.

MEZIANE-CHERIF, D.; COURVALIN, P. Antibiotic resistance: to the rescue of old drugs. **Nature**, Londres, v. 510, n. 7506, p. 477, 2014. DOI: https://doi.org/10.1038/510477a.

MILLSOP, Jillian W.; FAZEL, Nasim. Oral candidiasis. **Clinics in Dermatology**, v. 34, n. 4, p. 487-494, 2016.

NAGLIK, Julian R. *et al*. Differential expression of *Candida albicans* secreted aspartyl proteinase and phospholipase B genes in humans correlates with active oral and vaginal infections. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 188, n. 3, p. 469–479, 2003.

NEVES-JUNIOR, A. *et al*. Prevalence and Fluconazole Susceptibility Profile of *Candida* spp. Clinical Isolates in a Brazilian Tertiary Hospital in Minas Gerais, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 2, p. 1349–1359, ago. 2015.

NGUYEN, Thi Anh *et al*. *Pichia kudriavzevii* (*Candida krusei*): A systematic review to inform the World Health Organisation priority list of fungal pathogens. **Medical Mycology**, v. 62, n. 6, p. myad132, 2024.

NINS, Catarina Diniz. **Principais mecanismos de resistência de *Candida albicans* e de espécies de *Candida* não albicans**: uma revisão bibliográfica. 2023. 47 f. Monografia (Bacharelado em Farmácia) – Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2023.

NOKHALA, Ahmed; SIDDIQUI, Mohammad Jamshed. Phytochemicals and biological activity of *Tetracera scandens* Linn. Merr. (Dilleniaceae): A short review. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 12, n. 3, p. 217-222, 2020.

NGUTA, J. M. *et al*. Biological screening of kenyan medicinal plants using *Artemia salina* L. (Artemiidae). **Pharmacologyonline**, v. 2, p. 458-478, 2011.

NUNES, C. D. R. *et al*. Plants as sources of anti-inflammatory agents. **Molecules**, v. 25, n. 16, p. 3726, 2020. DOI: 10.3390/molecules25163726.

NUGRAHA, A. P. *et al*. Prevalence of *Candida* species in oral candidiasis and correlation with CD4+ count in HIV/AIDS patients at Surabaya, Indonesia. **Journal of International Dental and Medical Research**, v. 11, n. 1, p. 81-85, 2018.

OLIVEIRA, A. K. M.; NUNES, A. C.; FARIAS, G. C. Predation of *Curatella americana* seeds by *Aratinga aurea* parrots. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n. 4, p. 526-529, 2012.

OLIVEIRA, L. B. S. *et al*. Atividade antifúngica e possível mecanismo de ação do óleo essencial de folhas de *Ocimum gratissimum* (Linn.) sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 18, n. 2, p. 511-523, 2016.

ORLANDINI, R. K. *et al*. Are *Candida albicans* isolates from the oral cavity of HIV-infected patients more virulent than from non-HIV-infected patients? Systematic review and meta-analysis. **Microbial Pathogenesis**, v. 149, p. 104477, 2020.

PAIVA, J. A.; PEREIRA, J. M. Treatment of invasive candidiasis in the era of *Candida* resistance. **Current Opinion in Critical Care**, v. 29, n. 5, p. 457-462, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1097/MCC.0000000000001077. Acesso em: 1 dez. 2024.

PAPPAS, P. G. *et al*. Invasive candidiasis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, p. 18026, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.26. Acesso em: 12 dez. 2024.

PEREIRA, A. P. B. *et al*. Avaliação do Efeito Inibitório de *Anadenanthera falcata* (Angico) sobre *Candida albicans* através da capacidade inibitória mínima e danos morfológicos/mitocôndria. **CIPEEX**, p. 2636-2639, 2018.

PEREIRA, M. D. S. V. *et al*. Estudo sobre métodos utilizados para a determinação da atividade antimicrobiana de extratos de plantas medicinais: elucidações e limitações das técnicas. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 4, p. 26085-26104, 2022.

PEREIRA, Patrícia Abreu. **Composição química e atividade antifúngica dos óleos essenciais de manjericão, alecrim, cravo e canela frente a *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes***. 2024. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2024.

PEREIRA, R. *et al*. Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance. **Journal of Applied Microbiology**, v. 131, n. 1, p. 11-22, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1111/jam.14949. Acesso em: 1 nov. 2024.

PEREIRA, L. *et al*. Influence of glucose concentration on the structure and quantity of biofilms formed by *Candida parapsilosis*. **FEMS Yeast Research**, v. 15, n. 5, fov043, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1093/femsyr/fov043.

PERFECT, J. R. The antifungal pipeline: a reality check. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 16, n. 9, p. 603-616, set. 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1038/nrd.2017.46. Acesso em: 1 nov. 2024.

PERLIN, D. S. Mechanisms of echinocandin antifungal drug resistance. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1354, n. 1, p. 1–11, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1111/nyas.12831. Acesso em: 13 jun. 2025.

PETRAITIENE, R. *et al*. Efficacy and Pharmacokinetics of Fosmanogepix (APX001) in the Treatment of *Candida* Endophthalmitis and Hematogenous Meningoencephalitis in Nonneutropenic Rabbits. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 65, n. 3, p. e01795-20, 2021. DOI: https://doi.org/10.1128/AAC.01795-20.

PETRILLO, F. *et al*. *Candida* biofilm eye infection: main aspects and advance in novel agents as potential source of treatment. **Antibiotics**, v. 12, n. 8, p. 1277, 2023. DOI: 10.3390/antibiotics12081277.

PRIYANKA *et al*. Plant secondary metabolites: Integrating phytochemical characterization, *in silico* approaches, and biotechnological innovations for future applications. **Rhizosphere**, v. 39, p. 101392, 2026.

VÁVROVÁ, Pavlína *et al*. The appropriate nutrient conditions for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* dual-species biofilm formation *in vitro*. **Scientific Reports**, v. 15, n. 1, 1 dez. 2025.

PINHO, S.; MIRANDA, I. M.; COSTA-DE-OLIVEIRA, S. Global epidemiology of invasive infections by uncommon *Candida* species: a systematic review. **Journal of Fungi**, v. 10, n. 8, p. 558, 2024. DOI: 10.3390/jof10080558.

PRISTOV, K. E.; GHANNOUM, M. A. Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 25, n. 7, p. 792-798, 2019.

PORFÍRIO, Bruno Ezequiel Carvalho *et al*. Cell surface hydrophobicity and biofilm formation of *Candida* yeast species in different culture media. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 33, n. 3, p. 739-746, maio/jun. 2017. DOI: https://doi.org/10.14393/BJ-v33n3a2017-36365.

RADUNOVIC, M. *et al*. Antifungal Susceptibility of *Candida albicans* Isolated from Tongue and Subgingival Biofilm of Periodontitis Patients. **Antibiotics**, v. 11, n. 6, p. 802, 2022.

RAHIMLI, L. *et al*. Necrotizing pancreatitis with invasive candidiasis and candidemia due to *Candida albicans* and pan-echinocandin-resistant *Candida glabrata*. **Medical Mycology Case Reports**, v. 43, 100636, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2024.100636. Acesso em: 1 dez. 2024.

RAMAGE, G. *et al*. Liposomal amphotericin B displays rapid dose-dependent activity against *Candida albicans* biofilms. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, n. 5, p. 2369-2371, 2013.

RATTER, J. A.; BRIDGEWATER, S.; RIBEIRO, J. F. Analysis of the floristic composition of the Brazilian cerrado vegetation III: comparison of the woody vegetation of 376 areas. **Edinburgh Journal of Botany**, v. 60, n. 1, p. 57-109, 2003.

REHEM, Amanda Rodrigues. **Reposicionamento de fármacos para cryptococose: avaliação experimental do cloridrato de duloxetina em *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii***. 2023. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal) - Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos, 2023.

RIERA, F. O. *et al*. Invasive candidiasis: update and current challenges in the management of this mycosis in South America. **Antibiotics**, v. 11, n. 7, p. 877, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/antibiotics11070877.

RESENDE, R. O.; PINHO, F. E. C. Estudo da espécie *Curatella americana* L. (Lixeira) utilizada como bioindicador em região aurífera do distrito de Cangas-Poconé-MT. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 11, n. 2, p. 48-63, 2011.

ROCHA, L. P. B. *et al*. Uso de Plantas medicinais: Histórico e relevância. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, e149101018597, 2021.

ROY, M. *et al*. Recent drug development and treatments for fungal infections. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 54, p. 1695-1716, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s42770-023-00999-z. Acesso em: 9 dez. 2024.

ROY, Sumita; GOW, Neil A. R. The role of the *Candida* biofilm matrix in drug and immune protection. **The Cell Surface**, v. 10, p. 100111, 2023. DOI: 10.1016/j.tcsw.2023.100111.

RUIZ-GAITÁN, Alba; DEL POZO, José Luis. AmBisome, tres retos: infección por *Candida auris*, infección del sistema nervoso central e infección asociada a biopelículas. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 38, n. 2, p. 84-90, 2021.

SAEED, N. K.; ALMUSAWI, S.; AL-BELTAGI, M. Candidemia chronicles: Retrospective analysis of candidemia epidemiology, species distribution, and antifungal susceptibility patterns in Bahrain. **World Journal of Virology**, v. 13, n. 4, p. 98839, 2024.

SAKITA, K. M. *et al*. Copolymeric micelles as efficient inert nanocarrier for hypericin in the photodynamic inactivation of *Candida* species. **Future Microbiology**, v. 14, n. 6, p. 519-531, 2019.

SANCHITA; SHARMA, A. Gene expression analysis in medicinal plants under abiotic stress conditions. In: **Plant Metabolites and Regulation Under Environmental Stress**. Academic Press, 2018. p. 407-414. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128126899000236. Acesso em: 25 out. 2024.

SANTANA, I. L. *et al*. Dietary carbohydrates modulate *Candida albicans* biofilm development on the denture surface. **PLOS ONE**, v. 8, n. 5, p. e64645, 2013.

SANTOS, A. C. M. C. *et al*. Phytotoxic activity of *Apeiba tibourbou* Aubl. and *Curatella americana* L. aqueous extracts on seed germination of *Lactuca sativa* L. **Hoehnea**, v. 51, e032024, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1590/2236-8906e032024. Acesso em: 18 maio 2025.

SANTOS, M. A. dos; LIMA, G. P. P.; SILVA, A. C. da. Propriedades inibidoras de α-glicosidase de extratos de folhas e casca de *Curatella americana* L. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, e27101527052, 2022. DOI: https://doi.org/10.33448/rsd-v10i15.27052. Disponível em: https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/27052. Acesso em: 18 maio 2025.

SANTOS, Daniel Sousa dos; RODRIGUES, Mayara Mikelle Farias. Atividades farmacológicas dos flavonoides: um estudo de revisão. **Estação Científica (UNIFAP)**, Macapá, v. 7, n. 3, p. 29-35, set./dez. 2017. DOI: http://dx.doi.org/10.18468/estcien.2017v7n3.p29-35.

SANTOS, F. *et al*. Anti-biofilm effect by the combined action of fluconazole and acetylsalicylic acid against species of *Candida parapsilosis* complex. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 84, p. 104378, 2020. DOI: https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104378.

SHARIFZADEH, A. *et al*. Synergistic anticandidal activity of menthol in combination with itraconazole and nystatin against clinical *Candida glabrata* and *Candida krusei* isolates. **Microbial Pathogenesis**, v. 107, p. 390-396, jun. 2017.

SERRANO-FUJARTE, Isela; LÓPEZ-ROMERO, Everardo; REYNA-LÓPEZ, Georgina Elena; MARTÍNEZ-GÁMEZ, Ma. Alejandrina; VEGA-GONZÁLEZ, Arturo; CUÉLLAR-CRUZ, Mayra. Influence of culture media on biofilm formation by *Candida* species and response of sessile cells to antifungals and oxidative stress. **BioMed Research International**, v. 2015, art. 783639, 2015. DOI: https://doi.org/10.1155/2015/783639

SHEREEN, M. A. *et al*. Plant extract preparation and green synthesis of silver nanoparticles using *Swertia chirata*: Characterization and antimicrobial activity against selected human pathogens. **Heliyon**, v. 10, n. 6, p. e28038, 2024.

SILVA, Ana Gabrielle da Rocha e. **As fases fenológicas de *Commiphora leptophloeos* influenciam no seu potencial contra biofilme de *Candida* spp.?** 2022. 71 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Conservação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada, 2022.

SILVA JÚNIOR, M. C. *et al*. **100 árvores do cerrado**: guia de campo. Brasília: Rede de Sementes do Cerrado, 2005. 278 p.

SILVA, D. *et al*. (R)-(+) -β-Citronellol and (S)-(−) -β-Citronellol in Combination with Amphotericin B against *Candida* spp. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 5, p. 1785, 2020.

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, D. M. da *et al*. Virulence factors of *Candida* species from the oral mucosa and prostheses of elderly people from a riverside community in the Amazon state, Brazil. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 48, e20190094, 2019. DOI 10.1590/1807-2577.09419. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1807-25772019000100442. Acesso em: 19 jun. 2024.

SILVA, Jordânya Klézya da. **Efeitos antifibróticos do extrato de *Curatella americana* L. sobre as células estreladas hepáticas**. 2018. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2018.

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.

SOUSA, J. P. de *et al*. Estudo do potencial antifúngico e do mecanismo de ação do timol contra cepas de *Candida parapsilosis* resistentes ao fluconazol e a anfotericina B. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 19, n. 3, p. 489–494, 2020. DOI: 10.9771/cmbio. v19i3.32901. Disponível em: https://periodicos.ufba.br/index.php/cmbio/article/view/32901. Acesso em: 1 dez. 2024.

SOUZA, Matheus da Silva. **Melhoramento da estabilidade física do pró-fármaco 5-Fluorocitosina via cocristalização**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2018. Disponível em: http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/76/76132/tde-07052019-110715/. Acesso em: 1 dez. 2024.

STEPANOVIĆ, S. *et al*. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. **APMIS**, v. 115, n. 8, p. 891–899, 2007. DOI: 10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x.

STICHER, O. Natural product isolation. In: SARKER, S. D.; LATIF, Z.; GRAY, A. I. (ed.). **Natural Products Isolation**. 2. ed. Totowa: Humana Press, 2008. p. 3–14. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-59745-082-5_1.

SQUITIERI, D. *et al*. Studying *Candida* biofilms across species: experimental models, structural diversity, and clinical implications. **Pharmaceuticals**, v. 19, n. 1, p. 8, 2026. DOI: 10.3390/ph19010008.

SUN, J. *et al*. *Candida albicans* amphotericin B-tolerant persister formation is closely related to surface adhesion. **Mycopathologia**, v. 181, n. 1-2, p. 41-49, 2016.

SZYMAŃSKI, M. *et al*. Echinocandins - structure, mechanism of action and use in antifungal therapy. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 37, n. 1, p. 876–894, 2022. https://doi.org/10.1080/14756366.2022.2050224.

TAN, Y.; LEONHARD, M.; SCHNEIDER-STICKLER, B. Evaluation of culture conditions for mixed biofilm formation with clinically isolated non-*albicans Candida* species and *Staphylococcus epidermidis* on silicone. **Microbial Pathogenesis**, v. 112, p. 215-220, 2017.

TEIXEIRA, J. V.; RIBEIRO, R. N.; DAUD, R. D. Mites on *Curatella americana* L. (Dilleniaceae) from Cerrado vegetation remnants in mining site vicinities. **International Journal of Acarology**, v. 43, n. 4, p. 302-307, 2017.

TROFA, D.; GÁCSER, A.; NOSANCHUK, J. D. *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 21, n. 4, p. 606–625, 2008. DOI: https://doi.org/10.1128/CMR.00013-08.

VAKILI-GHARTAVOL, Masoumeh; AROUIEE, Hossein. Harnessing plant-derived antifungal agents and nanoencapsulation for postharvest pathogen management: a comprehensive review. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 24, p. 102280, 2025. DOI: 10.1016/j.jafr.2025.102280.

VERDÍA BARBARÁ, P. *et al*. Recent advances in the use of ionic liquids and deep eutectic solvents for lignocellulosic biorefineries and biobased chemical and material production. **Chemical Reviews**, v. 125, n. 12, p. 5461–5583, 2025. DOI: 10.1021/acs.chemrev.4c00754.

VIEIRA, A. J. H.; SANTOS, J. I. Mecanismos de resistência de *Candida albicans* aos antifúngicos anfotericina B, fluconazol e caspofungina. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 49, n. 3, p. 235-239, 2017.

VIEIRA, J. N. *et al*. Evaluation of the frequency of *Candida* spp. in hospitalized and non-hospitalized subjects. **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, n. 4, p. 644-652, 2018.

VILA, T. *et al*. Oral candidiasis: A disease of opportunity. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 1, p. 15, 2020.

VILAR, J. B. *et al*. Assessment of genotoxicity and cytotoxicity of "lixeira" (*Curatella americana* L.) using the prophage induction test (SOS inductest). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 3, p. 491-496, 2009.

WEERASEKERA, Manjula M.; WIJESINGHE, Gayan K.; JAYARATHNA, Thilini A.; GUNASEKARA, Chinthika P.; FERNANDO, Neluka; KOTTEGODA, Nilwala; SAMARANAYAKE, Lakshman P. Culture media profoundly affect *Candida albicans* and *Candida tropicalis* growth, adhesion and biofilm development. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 111, n. 11, p. 697–702, 2016. DOI: https://doi.org/10.1590/0074-02760160294

WEIL, T. *et al*. Adaptive Mistranslation Accelerates the Evolution of Fluconazole Resistance and Induces Major Genomic and Gene Expression Alterations in *Candida albicans*. **mSphere**, v. 4, n. 2, e00115-19, ago. 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO releases first-ever list of health-threatening fungi**. Geneva: WHO, 25 oct. 2022. Disponível em: https://www.who.int/news/item/25-10-2022-who-releases-first-ever-list-of-health-threatening-fungi. Acesso em: 17 jan. 2025.

WU, X. *et al*. Polimetacrilatos derivados de RAFT como tratamento superior para candidíase vulvovaginal recorrente, visando biofilmes bióticos e células persistentes. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 2592, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02592. Acesso em: 29 set. 2024.

ZENG, B. *et al. In vitro* and *in vivo* effects of suloctidil on growth and biofilm formation of the opportunistic fungus *Candida albicans*. **Oncotarget**, v. 8, n. 41, p. 69972-69981, 2017.

ZENI, A. L. B. *et al.* Utilização de plantas medicinais como remédio caseiro na Atenção Primária em Blumenau, Santa Catarina, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, n. 8, p. 2703-2712, 2017. Disponível em: https://www.scielo.br/j/csc/a/abcde. Acesso em: 5 nov. 2024.

ZHANG, L. *et al.* Development of fluconazole resistance in a series of *Candida parapsilosis* isolates from a persistent candidemia patient with prolonged antifungal therapy. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, p. 340, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1186/s12879-015-1086-6. Acesso em: 8 jun. 2025.

ZHANG, Q.-W.; LIN, L.-G.; YE, W.-C. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. **Chinese Medicine**, v. 13, n. 1, p. 20, 2018. DOI: https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x.

ZUZA-ALVES, D. L. *et al.* An update on *Candida tropicalis* based on basic and clinical approaches. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1927, 2017.