



## **Isolamento e caracterização de *Candida* sp. no mamilo de lactantes de uma maternidade da rede pública na cidade de Manaus**

Gabriela Hermida Dias<sup>1</sup>, Fábio Raphael Moreira Cáuper<sup>2</sup>, Thaís Cristina Ferreira Corrêa<sup>3</sup>, Tânia Ramires Gondim<sup>4</sup>, Katia Santana Cruz<sup>5</sup>, Luciana Lima de Brito Cáuper<sup>6</sup>, Suely de Souza Costa<sup>7</sup>

### **Resumo**

A candidíase é a principal infecção fúngica oportunista do ser humano, sendo classificada em endógena e exógena, sendo a endógena a que faz parte da microbiota humana que podem causar diversos quadros infecciosos com formas clínicas localizadas ou disseminadas. Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o crescimento, isolamento e identificação das espécies de *candida* em processos inflamatórios mamários e observar as principais intercorrências mamárias durante a lactação. A pesquisa foi realizada em uma maternidade da rede pública na cidade de Manaus-AM. A coleta foi realizada em 50 pacientes do gênero feminino e que estavam amamentando. O material foi adquirido por fricção local, auréola-mamilo, e cultivadas em ágar Sabouraud dextrose à 37°C por 48 horas, em seguida foram identificadas as espécies por meio de pigmentação do meio ChroMagar e levado a estufa bacteriológica à 37°C por um período de até 7 dias. Foram realizadas também testes de produção de enzimas proteinase e fosfolipase e em seguida testes de susceptibilidade da folha da *Psidium guajava* Linn. (goiabeira) frente as leveduras do gênero *Candida*. Das 50 amostras coletadas, 32 (64%) apresentaram crescimento, sendo 26 *C. glabrata*, 9 *C. krusei*, 3 *C. tropicalis* e 1 *C. albicans*. Na atividade enzimática houve atividade em mais da metade das amostras, sendo 68% para fosfolipase e 84% para proteinase, observando-se que houve maior atividade na enzima proteinase. A atividade antifúngica com a folha da *Psidium guajava* Linn. (goiabeira) mostrou-se satisfatória, obtendo resultado positivo a todas as amostras, mostrando o perfil da CIM (concentração inibitória mínima) das amostras de *candida* sp.

**Palavras-Chave:** Candidíase mamária; produtividade enzimática; atividade antifúngica.

**Isolation and characterization of *Candida* sp. in the nipple of infants of a maternity hospital in the city of Manaus.** Candidiasis is the main opportunistic fungal infection of the human being, classified as endogenous and exogenous, being the endogenous one that is part of the human microbiota that can cause diverse infectious pictures with clinical forms localized or disseminated. Thus, the objective of this research was to evaluate the growth, isolation and identification of candida species in inflammatory breast processes and to observe the main breast interurrences during lactation. The research was carried out in a maternity hospital of the public network in the city of Manaus-AM. The collection was performed in 50 female patients who were breastfeeding. The material was acquired by local friction, aureola-nipple, and cultured on Sabouraud dextrose agar at 37 ° C for 48 hours, then the species were identified by means of pigmentation of the ChroMagar medium and taken to bacteriological

<sup>1</sup> Bacharel pelo curso de Enfermagem da Universidade Paulista (UNIP), [gabyhermida86@gmail.com](mailto:gabyhermida86@gmail.com)

<sup>2</sup> Doutorando pelo Programa Multi-Institucional de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), [fabio.cauper@gmail.com](mailto:fabio.cauper@gmail.com)

<sup>3</sup> Bacharel pelo curso de Farmácia da Universidade Paulista (UNIP), [cfcsiaht@gmail.com](mailto:cfcsiaht@gmail.com)

<sup>4</sup> Bacharel em enfermagem e especialista, [enftaniagondim@hotmail.com](mailto:enftaniagondim@hotmail.com)

<sup>5</sup> Pesquisadora em micologia da Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, [katia.cruz@fmt.am.gov.br](mailto:katia.cruz@fmt.am.gov.br)

<sup>6</sup> Doutora pelo Programa Multi-Institucional de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), [luci\\_brito@hotmail.com](mailto:luci_brito@hotmail.com)

<sup>7</sup> Doutora em engenharia de produção e pesquisadora titular III do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), [sscosta@inpa.gov.br](mailto:sscosta@inpa.gov.br)



oven at 37 ° C for one period of up to 7 days. Tests were also carried out on proteinase and phospholipase enzyme production and then on susceptibility tests on *Psidium guajava* Linn leaf. (guava) against *Candida* yeasts. Of the 50 samples collected, 32 (64%) showed growth, being 26 *C. glabrata*, 9 *C. krusei*, 3 *C. tropicalis* and 1 *C. albicans*. In the enzymatic activity there was activity in more than half of the samples, being 68% for phospholipase and 84% for proteinase, observing that there was more activity in the proteinase enzyme. The antifungal activity with the leaf of *Psidium guajava* Linn. (guava) was satisfactory, obtaining a positive result for all the samples, showing the MIC (minimum inhibitory concentration) profile of *Candida* sp.

**Key-words:** Breast candidiasis; enzymatic productivity; antifungal activity.

## 1. Introdução

Fungos são seres dispersos no meio ambiente, em vegetais, ar atmosférico, solo e água e, embora sejam estimados em 250 mil espécies, menos de 150 foram descritos como patógenos aos seres humanos. Leveduras são fungos capazes de colonizar o homem e animais e, frente à perda do equilíbrio parasita-hospedeiro, podem causar diversos quadros infecciosos com formas clínicas localizadas ou disseminadas. (ANVISA, 2004).

A candidíase ou candidose é uma micose oportunista primária ou secundária, endógena ou exógena, causada por leveduras do gênero *Candida*. As lesões podem variar de superficiais a profundas; brandas, agudas ou crônicas; envolvendo diversos sítios, tais como boca, garganta, língua, pele, couro cabeludo, genitálias, dedos, unhas e por vezes órgãos internos. O gênero mais comum é *Candida albicans*, mas outras espécies têm sido também identificadas como: *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*. Embora mais de 100 espécies de *Candida* já tenham sido descritas, só algumas têm sido causadoras de infecções clínicas. (BARBEDO & SGARBI, 2010; CHAVES, et al., 2015).

Atualmente a candidemia é reconhecida como grave problema de saúde pública nas regiões subdesenvolvidas, mas também é preocupante nos países desenvolvidos. A gravidade da doença, associada a condições debilitantes do paciente, leva a um aumento do tempo de internação hospitalar, acarretando elevação nos custos socioeconômicos. (GIOLLO & SVIDZINSKI, 2010).

Os pacientes imunocomprometidos possuem uma maior probabilidade de serem acometidos por infecções fúngicas, como os indivíduos portadores de leucemia, linfoma, diabetes mellitus e síndrome da imunodeficiência adquirida. Os fungos são de uma forma geral,

organismos do meio externo excetuando-se algumas espécies de *Candida*. Desta forma, os fungos que entram em contato com o ser humano e animais podem causar alguns danos, os quais podem variar de micoses superficiais benignas até micoses mais severas. (HAZEN, 1995).

No caso de puérperas que passaram por processo cirúrgico, cesariana, deve ser levado em consideração as variáveis ocorrências no processo pré, trans e pós-operatório. Segundo Araújo (2012), a infecção puerperal é descrita na literatura, em termos gerais, para se referir a processos infecciosos após o parto, seja por causas genitais, como infecções de útero, anexos e ferida operatória, ou por aquelas conhecidas como extragenitais, quando ligadas ao ingurgitamento mamário, mastite, tromboflebite, complicações respiratórias e infecções urinárias. As infecções puerperais acontecem independentemente do tipo de parto a que a mulher foi submetida. Entretanto, a cesariana é o principal fator de risco para o desenvolvimento e elevação desse agravo.

Outro fator de risco são as intercorrências mamárias que segundo Santos (2013), essas complicações têm início especialmente nos primeiros dias, aproximadamente entre o primeiro e o décimo quinto dia após o parto, quando o processo de amamentação e o ritmo das mamadas se apresentam ainda instáveis. De acordo com Castro et al (2009), as principais intercorrências mamárias relacionadas à lactação são ingurgitamento mamário, fissura mamilar, mastite puerperal, bloqueio de ducto e abscesso mamário. As intercorrências mamárias relacionadas à lactação são, reconhecidamente, fatores determinantes na continuidade e sucesso da amamentação.

A *Candida albicans*, um fungo comensal encontrado frequentemente na vagina e no trato gastrointestinal de seres humanos, tem sido responsabilizada por infecção superficial e



localizada das mamas em mulheres lactantes, apresentando fissuras e dor, sendo característica da infecção pela levedura e podendo ser a principal causa de abandono prematuro na lactação. (GIUGLIANI, 2004).

Segundo Menezes et al (2004), são mais comuns em recém-nascidos que ainda não colonizaram sua orofaringe, que por isso possui um pH baixo, condição que facilita a colonização da cavidade oral.

A planta *Psidium guajava*, conhecida popularmente como goiabeira, se apresenta na natureza em forma de arbusto perene da família das Mirtáceas. É uma árvore frutífera, originária das Américas Central e do Sul, cultivada em todos os países de clima tropical. Na medicina popular é utilizada para cólicas, colite, diarreia, disenteria e dor de barriga (VENDRUSCOLO et al., 2005; TÔRRES et al., 2005). Segundo algumas pesquisas realizadas no Brasil, país detentor de uma grande biodiversidade, a goiaba vermelha, *Psidium guajava*, poderia ser utilizada como alternativa terapêutica em infecções fúngicas (ALVES et al., 2006; ALVES et al., 2009).

Em função do grande número de puérperas com problemas no ato da amamentação queixando-se de dor e ardor ao amamentar, fissura na base do mamilo, ingurgitamento mamário, sangramento, entre outras complicações, surgiu o interesse em verificar os mecanismos de virulência de *Candida* sp. envolvidas em processos inflamatórios da mama em pacientes de uma maternidade na cidade de Manaus-AM.

Desta forma, o objetivo da pesquisa foi analisar o crescimento, isolamento e identificação das espécies de *Candida* sp. envolvidas em processos inflamatórios mamários, bem como atos de prevenção e orientação junto as pacientes. Foram feitos testes para estimar a produtividade de enzimas fosfolipases e proteinases, assim como a avaliação *in vitro* da atividade antifúngica do extrato da folha da *Psidium guajava* Linn. (goiabeira), considerando que a goiabeira é uma planta típica da nossa região, acessível à população e o extrato de baixo custo, a folha da goiabeira pode ser utilizada como meio alternativo no tratamento da candidíase.

## 2. Material e Método

### 2.1 Coleta do material

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Paulista

UNIP/Manaus, sob protocolo CAAE 48305815.0.0000.5512.

Participaram do presente estudo 50 pacientes do gênero feminino, com idades entre 17 a 37 anos. Todas as pacientes foram previamente elucidadas quanto ao projeto de pesquisa, através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), questionário referente a informações clínicas e pessoais, com suas identidades mantidas em sigilo. As amostras foram coletadas de pacientes que estavam amamentando e alojadas em uma maternidade pública na cidade de Manaus-AM. O material foi coletado com auxílio de swab estéril através de fricção local (auréola- mamilo) por profissionais de saúde qualificados e posteriormente foi transportado em meio salino até o laboratório de análises clínicas da Universidade Paulista – UNIP/Manaus.

### 2.2 Crescimento, isolamento e identificação dos micro-organismos

Utilizou-se o meio de cultura ágar Sabouraud dextrose para o crescimento dos fungos, onde as amostras foram incubadas a 37°C por um período de 24h a 48h em tubos de ensaio contendo o meio de cultura. Em seguida utilizou-se o meio CHROMagar Candida® (Paris, França) nas mesmas condições de temperatura por um período de até sete dias, em placas de Petri, onde foi observada a morfologia característica das colônias, conforme Tabela 1.

Tabela 1 – Cor e morfologia das colônias de *Candida* em CHROMagar *Candida* segundo instruções do fabricante.

Cor típica da colônia	Micro-organismos pré-identificado
Verde	<i>C. albicans</i>
Azul metálico	<i>C. tropicalis</i>
Roxo	<i>C. glabrata</i>
Rosa, rugosa	<i>C. krusei</i>
Branca a rosa	Outras espécies

### 2.3 Preparação do extrato da folha da *Psidium guajava* Linn. (Goiabeira).

A extração das folhas da *Psidium Guajava* Linn. (goiabeira), foi realizada de acordo com metodologia descrita por Alves et al (2006). As folhas foram coletadas e identificadas com a utilização do número de tombamento - INPA-

279.374 no Herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA.

As folhas foram lavadas com água corrente e posteriormente separadas as matérias-primas a serem utilizadas na pesquisa. Em seguida a matéria-prima foi levada à secagem em estufa a 33°C, durante 22 horas, para eliminação de umidade e estabilização do material. Passado este período a matéria-prima foi retirado da estufa, trituração a pó em moinho elétrico e então submetida a processo de extração dos princípios ativos. Por se tratar de uma matéria rica em polifenóis de fácil modificação estrutural, não foi utilizada a extração à quente, preservando assim a estabilidade do material. O método de extração empregado foi a lixiviação ou percolação em fluxo contínuo à temperatura ambiente. Esta etapa ocorreu em um período de 24 horas, e uma preparação hidroalcoólica a 80% v/v foi utilizado como solução extratora.

Após este tempo, o marco fica completamente esgotado (extração total dos marcadores ou princípios ativos). Nesta etapa, foram utilizadas aproximadamente 106,6 mL de solução hidroalcoólica para 20 g de matéria-prima seca e pulverizada, visando o completo esgotamento da droga. A concentração da solução de extrato padrão (em nível de extrato fluido 1:1 p/v), utilizando rota-vapor a temperatura constante de 45°C.

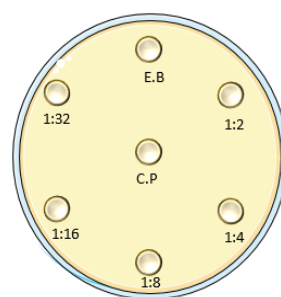
#### 2.4 Montagem do experimento para a determinação da atividade antifúngica da folha da *Psidium guajava* Linn (Goiabeira).

A atividade antifúngica foi determinada pelo método de difusão em meio sólido para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). As cepas foram reativadas em caldo Sabouraud Dextrose a 37°C e estocadas em ágar Sabouraud Dextrose 4%. Para a condução do estudo, suspensões fúngicas dos micro-organismos foram preparadas em solução salina, sob a concentração  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL na escala de 0,5, comparável ao tubo a  $10^8$  da escala de MacFarland. Foram realizadas perfurações de aproximadamente 6 mm de diâmetro no meio de cultura ágar Sabouraud Dextrose 4% depositadas em placas de petri. Nestes orifícios foi colocado um volume de 50 µL da solução da escala do extrato diluído, variando da diluição 1:1 até 1:32,

em água estéril. Os testes foram realizados em duplicata (Figura 1).

As placas foram incubadas em estufa a 37°C por um período de 24-48 horas. A medição de cada halo foi calculada através da média igual ao diâmetro horizontal mais o diâmetro vertical dividido por dois (conforme a fórmula). (CAVALCANTI, et al. 2011; ALVES, et al, 2006. Com adaptações).

$$\bar{X} = \frac{DH + DV}{2}$$



**E.B:** Extrato Bruto  
**C.P:** Controle Positivo (gluconato de clorexidina a 0,12 %)

**Diluição seriada (Com fator de diluição 2):**

- Diluição 1:2
- Diluição 1:4
- Diluição 1:8
- Diluição 1:16
- Diluição 1:32

Figura 1 – Representação esquemática da distribuição dos orifícios para o acondicionamento do extrato das folhas de *Psidium guajava* Linn. em placa de petri.

#### 2.5 Determinação da atividade enzimática de *Candida sp.*

A detecção da atividade enzimática foi realizada segundo a metodologia de Camargo et al (2008), no qual os isolados foram submetidos à pesquisa de enzimas fosfolipase e proteinase. Foram utilizados os meios de cultura ágar proteinase (extrato de levedura 11,7 g; albumina bovina 2 g; protovit 3 gotas, ágar 18 g e H<sub>2</sub>O 1000 mL) e ágar fosfolipase (ágar Sabouraud 65 g; NaCl 57,3 g; CaCl<sub>2</sub> 0,55 g; gema de ovo 40 g e H<sub>2</sub>O 1000 mL). A padronização da concentração da solução de micro-organismos utilizada nos testes foi feita equivalente a 1 na escala de MacFarland, posteriormente foram inoculadas em ponto central das placas contendo os meios. Os inóculos de cultivos permaneceram incubados a 37°C, durante sete dias para proteinase e quatro dias para fosfolipase.

A presença da atividade da proteinase e da fosfolipase foi verificada pela formação de um halo transparente ou opaco ao redor da colônia, respectivamente. A atividade enzimática (Pz) foi obtida por meio da razão entre o diâmetro da

colônia e o diâmetro da colônia mais a zona de precipitação, onde  $Pz = 1$  é negativo,  $Pz > 0,64$  e  $< 1$  é positivo e  $Pz \leq 0,63$  é fortemente positivo (Figura 2).

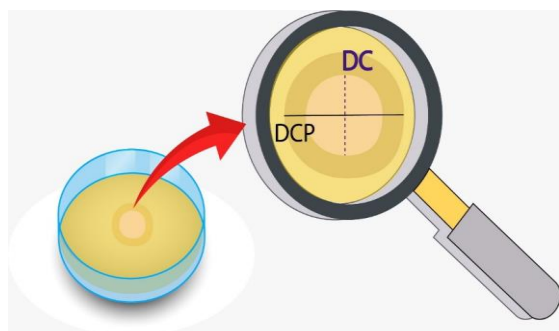


Figura 2 - Esquema ilustrativo para a determinação da atividade enzimática

## 2.6 Análises estatísticas

Os ensaios foram realizados com análise de variância (ANOVA), pelo teste F, quando significativo, as comparações de médias foram realizadas pelo teste de Tukey, todos os testes realizados ao nível de 5% de probabilidade.

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1 Frequência de *Candida sp.* nas amostras coletadas

As leveduras do gênero *Candida* estavam presentes em 32 amostras coletadas (64%). As mesmas foram identificadas utilizando o meio de cultura CHROMagar, cuja proporção foi de 26 *Candida glabrata*, 9 *C. krusei*, 3 *C. tropicalis*, 1 *C. albicans* e 4 outras espécies, demonstrados na Figura 3.

Entre as amostras contendo leveduras, 26 apresentaram uma única espécie de levedura (81%) e apenas 6 apresentaram mais de uma espécie (19%). Para o teste enzimático e antifúngico foram usados apenas amostras contendo as espécies isoladas, sendo 20 *C. glabrata*, 3 *C. tropicalis*, 2 *C. krusei* e 1 *C. albicans* (Figura 4).

De acordo com a Anvisa (2004), um grupo europeu realizou na década de 90 um estudo multicêntrico e, por análise uni variada, concluíram que *C. glabrata* está associada à maior taxa de mortalidade e que óbito estava relacionado com maior idade e severidade da doença de base

do paciente, porém devemos ressaltar que também as outras espécies encontradas, *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. albicans* possuem alta patogenicidade.

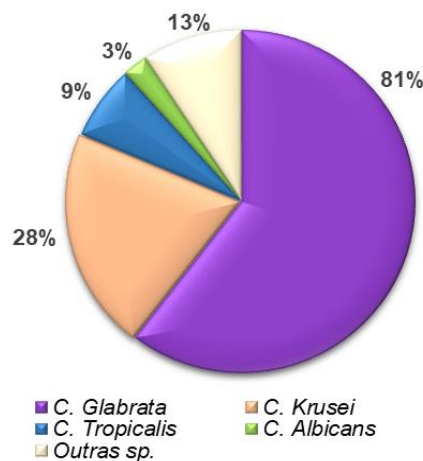


Figura 3 - Percentual das espécies de *Candida sp.* encontradas em todas as amostras.

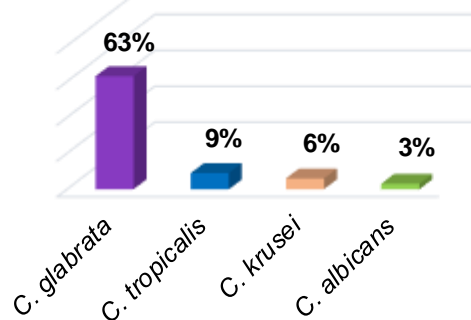


Figura 4 - Frequência das espécies de *Candida sp.* encontradas por amostra. Essas mesmas amostras apresentaram apenas uma única espécie de levedura.

Segundo Araújo et al (2005), diz que, embora *Candida albicans* seja predominante em amostras clínicas, outras espécies de *Candida* têm sido relatadas como importantes patógenos. Algumas espécies como *C. glabrata* e *C. krusei* têm-se mostrado intrinsecamente resistentes ao fluconazol. Consequentemente, faz-se necessária uma identificação rápida e precisa dessas leveduras para que se estabeleça uma terapia antifúngica adequada. Com a falta de autores falando da espécie *glabrata*, houve dificuldades na discussão da prevalência dessa espécie. Menezes et al (2004), fez sua análise no mesmo sítio de coleta, o mamilo, porém a prevalência foi da *C. albicans*. A Anvisa (2004), descreve que *C. albicans* e *C. glabrata* são as duas espécies mais patogênicas aos seres humanos, e essas duas

espécies foram encontradas no mesmo sítio de coleta, porém em diferentes estados já que a pesquisa realizada por Menezes et al (2004), foi realizada no Fortaleza-CE e essa em Manaus-AM.

### 3.2 Atividade de fosfolipase e proteinase de espécies de *Candida* sp.

Houve atividade enzimática na maior parte das cepas analisadas, sendo 15 (58%) produtora da fosfolipase e 18 (69%) para proteinase, observando-se que dentre elas houve maior produção enzimática para proteinase. As determinações foram feitas de acordo com a legenda  $Pz = 1$  (negativa);  $> 0,64$   $Pz < 1$  (positiva) e  $Pz \leq 0,63$  (fortemente positiva). Em relação a esta classificação foi verificado 11 negativas, 6 positivas e 9 fortemente positiva para produção de fosfolipase. Na produção de proteinase foi verificado 8 negativas, 4 positivas e 14 fortemente positiva. Todos esses resultados tanto da produção de fosfolipase quanto da proteinase foram realizadas com 26 espécies isoladas, divididas em *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. albicans*, conforme Tabela 2.

Tabela 2 – Valores de Pz para determinação da atividade enzimática de Proteinase e Fosfolipase.

Espécie	Amostras	Valor Pz F <sup>1</sup>	Valor Pz P <sup>2</sup>
<i>C. glabrata</i>	1	0,6	0,76
<i>C. glabrata</i>	2	1	1
<i>C. glabrata</i>	3	0,64	0,47
<i>C. glabrata</i>	4	1	0,46
<i>C. glabrata</i>	5	0,8	0,17
<i>C. glabrata</i>	6	0,55	0,32
<i>C. glabrata</i>	7	0,6	0,64
<i>C. glabrata</i>	8	0,66	1,57
<i>C. glabrata</i>	9	0,82	0,15
<i>C. glabrata</i>	10	0,66	1
<i>C. glabrata</i>	11	0,53	0,27
<i>C. glabrata</i>	12	0,53	0,44
<i>C. glabrata</i>	13	1	0,4
<i>C. glabrata</i>	14	0,88	0,29
<i>C. glabrata</i>	15	0,5	0,14
<i>C. glabrata</i>	16	1	1
<i>C. glabrata</i>	17	0,66	0,58
<i>C. glabrata</i>	18	1	0,2
<i>C. glabrata</i>	19	1	0,72
<i>C. glabrata</i>	20	0,54	0,58
<i>C. tropicalis</i>	1	1	1
<i>C. Tropicalis</i>	2	1	1
<i>C. Tropicalis</i>	3	1	1
<i>C. Krusei</i>	1	0,22	0,47

<sup>1</sup> Valor Pz fosfolipase, <sup>2</sup> Valor Pz proteinase

Menezes et al (2004), demonstrou que atividades distintas de proteinase podem ser apresentadas por diferentes linhagens de *C. albicans* e diferentes espécies de *Candida*, o que justifica a diferenciação dos valores entre as espécies na produção enzimática proteica. Candido et al (2000), verificou que *C. albicans* foi a mais prevalente em todos os tipos de amostras examinadas. Entre os pacientes com lesões apresentaram *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii* e *C. krusei*, todas produziram atividade nas enzimas fosfolipase e proteinase em suas cepas analisadas da cavidade oral. Em nossa pesquisa houve a prevalência da produção enzimática de proteinase frente a fosfolipase e houve produtividade na maioria das cepas de *C. glabrata*, a mais prevalente, em *C. krusei*, de duas cepas analisadas, uma houve a produtividade em ambas as enzimas, já nas cepas de *C. tropicalis* e *C. albicans* não houve o crescimento em ambas as enzimas, porém devemos levar em consideração o quantitativo das cepas analisadas dessas espécies, *C. tropicalis* que foram somente três e *C. albicans* uma. Apesar do sítio de coleta serem diferentes, sendo uma da cavidade oral e o outro do mamilo de lactantes, é evidente que em ambas prevalências de espécies houve a produção enzimática, demonstrando grande capacidade patogênica em ambos os sítios.

### 3.3 Suscetibilidade ao extrato

Os testes de suscetibilidade das espécies de *Candida* sp. ao extrato da folha da goiabeira demonstraram que as amostras apresentaram suscetibilidade nas concentrações extrato bruto, e nas diluições 1:2 e 1:4 para espécie *C. glabrata*. Em *C. tropicalis* houve atividade antifúngica do extrato bruto até a diluição 1:8 e para *C. krusei* houve suscetibilidade chegando até a diluição 1:32, mostrando que houve atividade antifúngica satisfatória. Essa análise foi realizada por meio da comparação entre os valores das diferentes escalas de diluições e a comparação dos valores do controle positivo (antifúngico comercial, gluconato de clorexidina a 0,12%) com as diluições do extrato. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, conforme Tabela 3.

As Figuras 5, 6 e 7, mostram as comparações da CIM (concentração inibitória mínima) do extrato frente ao controle positivo

(gluconato de clorexidina a 0,12%), um antifúngico comercial.

Tabela 3 – Distribuição do perfil de susceptibilidade das espécies de *Candida* sp. mediante as diferentes concentrações de extrato.

Diluição	<i>C. glabrata</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. albicans</i>
Extrato bruto*	2.63125 <b>a</b>	2.16667 <b>a</b>	2.67500 <b>a</b>
1:2	2.00375 <b>b</b>	1.73333 <b>ab</b>	1.88750 <b>a</b>
1:4	1.63750 <b>bc</b>	1.54167 <b>ab</b>	1.62500 <b>a</b>
1:8	1.30500 <b>cd</b>	1.38333 <b>abc</b>	1.07500 <b>a</b>
1:16	0.81875 <b>de</b>	1.28333 <b>bc</b>	0.70000 <b>a</b>
1:32	0.72250 <b>e</b>	0.68333 <b>c</b>	0.82500 <b>a</b>
Controle positivo*	1.92750 <b>b</b>	1.50000 <b>abc</b>	1.56250 <b>a</b>

\*Extrato bruto feito com folha de *Psidium guajava* Linn.

\*Controle positivo feito com gluconato de clorexidina a 0,12%.

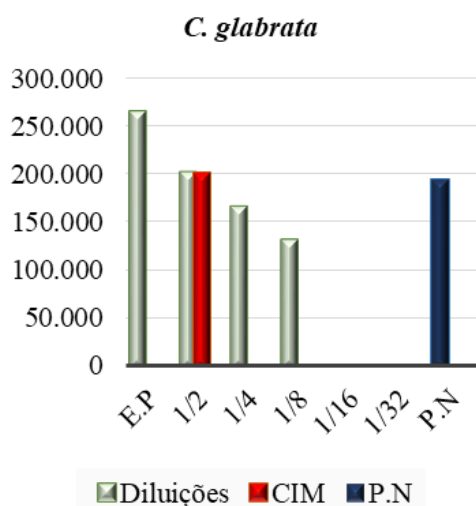


Figura 5 – Distribuição do perfil de susceptibilidade das espécies de *C. glabrata* mediante a comparação com o controle positivo gluconato de clorexidina a 0,12% (antifúngico comercial). No eixo “Y”, valores obtidos por meio do teste de Tukey.

Os resultados demonstram que *C. glabrata* foi a espécie menos suscetível ao extrato, uma vez que este mesmo apresentou atividade antifúngica somente quando aplicado a solução de

extrato bruto e na diluição 1:2. Diferentemente, as outras duas espécies envolvidas no teste, *C. tropicalis* e *C. krusei*, demonstraram ser mais suscetível ao extrato, pois o mesmo apresentou atividade antifúngica até a concentração 1:4.

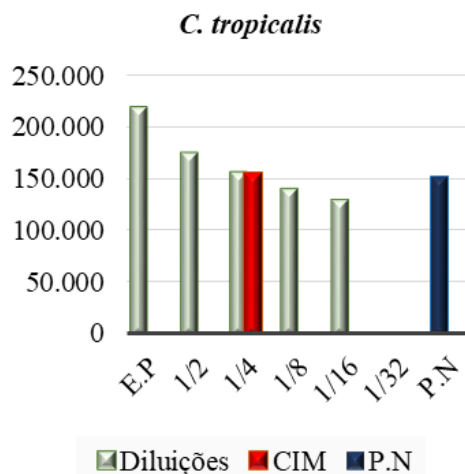


Figura 6 – Distribuição do perfil de susceptibilidade das espécies de *C. tropicalis* mediante a comparação com o controle positivo gluconato de clorexidina a 0,12% (antifúngico comercial). No eixo “Y”, valores obtidos por meio do teste de Tukey.

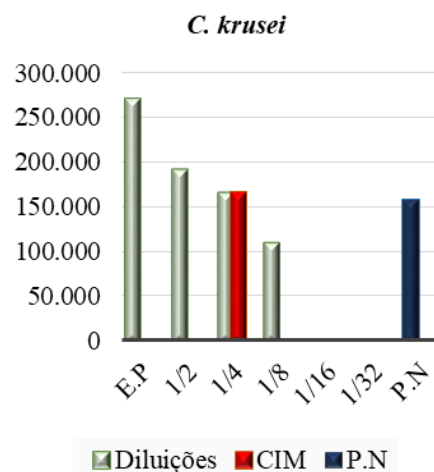


Figura 7 – Distribuição do perfil de susceptibilidade das espécies de *C. krusei* mediante a comparação com o controle positivo gluconato de clorexidina a 0,12% (antifúngico comercial). No eixo “Y”, valores obtidos por meio do teste de Tukey.

O teste antifúngico foi realizado em todas as espécies, porém não foi possível realizar a análise estatística da espécie *albicans* devido ser somente uma amostra. Todos os testes foram realizados em duplicata.



Segundo Alves et al (2006), as cepas de *Candida* sp. analisadas com o extrato da folha da goiabeira apresentou excelentes resultados em seu estudo, inibindo o crescimento de todas as cepas analisadas. *C. albicans* e *C. tropicalis* foram inibidas até a concentração de 1:32. Já as leveduras *C. stellatoidea* e *C. krusei* apresentaram sensibilidade apenas nas maiores concentrações 1:2.

A susceptibilidade ao extrato foi satisfatória em ambos estudos, no entanto, a CIM foi diferente nas cepas analisadas. Alves et al (2006), analisou cepas de *Candida* sp. da cavidade oral de humanos, onde *C. albicans* foi inibida pelo extrato até a diluição 1:32. Contudo em nossa pesquisa além da diferenciação da espécie predominante e do sítio de coleta, houve também diferenciação entre os resultados dentre as espécies e da CIM, onde cada uma obteve seu próprio resultado, mostrando que a *C. glabrata* é mais resistente comparada a *C. tropicalis* e a *C. krusei* já que o único que conseguiu combater com eficácia foi o extrato bruto e a diluição 1:2, diferentemente da *C. tropicalis* e da *C. krusei* que conseguiu combater no extrato mais diluído chegando até 1:4. Todas as cepas foram comparadas com o controle positivo (gluconato de clorexidina a 0,12%), um antifúngico comercial, onde o intuito desse comparativo é que a CIM (concentração inibitória mínima) do extrato da folha da goiabeira tenha um efeito terapêutico mais eficaz, frente as leveduras do gênero *Candida*.

#### 4. Conclusão

A pesquisa demonstrou resultados satisfatórios, visando a melhoria da sociedade, principalmente as lactantes que são as personagens principais desta pesquisa, onde visamos minimizar as intercorrências mamárias, evitando-se possíveis transtornos no ato da amamentação, tornando assim, sua primeira opção de alimentar o lactente de forma afetiva e prazerosa.

Também verificamos o nível de virulência desses fungos, através do teste enzimático em que nos isolados testados observou-se uma maior prevalência de *C. glabrata*. No gênero *Candida*, houve maior produção de proteinase quando comparada à atividade de fosfolipase, o que nos mostrou um alto potencial patogênico e a facilidade com que este fungo tem em adaptar-se

no corpo humano, principalmente na região onde foi coletado, auréola-mamilo, que se torna uma região vulnerável e totalmente propensa ao fungo, em várias questões, como: temperatura da região, baixa luminosidade, rico em propriedades nutritivas no período de lactação que garantem a sobrevivência desses fungos no local, entre outros fatores extrínsecos que também podem estar relacionados com a proliferação desse fungo, como, a higienização, entre outros.

*Psidium guajava* Linn. (goiabeira), demonstrou eficácia sobre as cepas do gênero *Candida*, como *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. krusei* analisados na pesquisa, apresentando potencial antifúngico *in vitro*, sugerindo uma análise mais aprofundada para possíveis sugestões de usos terapêuticos e formas farmacêuticas apropriadas.

#### Divulgação

Este artigo é inédito e não está sendo considerado para qualquer outra publicação. O(s) autor(es) e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, a revista *Scientia Amazonia* detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação, deste artigo, por meio eletrônico.

#### Referências

ALVES, P. M.; LEITE, P. H. A. S.; PEREIRA, J. V.; PEREIRA, L. F.; PEREIRA, M. S. V.; HIGINO, J. S.; LIMA, E. O. **Atividade antifúngica do extrato de *Psidium guajava* Linn (goiabeira) sobre leveduras do gênero *Candida* da cavidade oral: uma avaliação in vitro.** Rev. Bras. Farmacogn., João Pessoa, v. 16, n. 2, p. 192-196, abr./jun. 2006.

ALVES, P. M.; QUEIROZ, L. M. G.; PEREIRA, J. V.; PEREIRA, M. S. V. **Atividade antimicrobiana, antiaderente e antifúngica in vitro de plantas medicinais brasileiras sobre micro-organismos do biofilme dental e cepas do gênero *Candida*.** Rev. Soc. Bras. Med. Trop., Brasília, v. 42, n. 2, p. 222-224, mar./abr. 2009.

ANVISA. **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde.** Campinas – SP, Editora Agência Nacional de Vigilância Sanitária SEPN 515, 1. ed. 2004. Acesso em 15/6/2016. Disponível em:





<http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/introducao.pdf>.

ARAÚJO L. A.; REIS, L. A. **Período Puerperal. Enfermagem na Prática Materno – Neonatal.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2012. p.73-83.

ARAÚJO, C. R.; MIRANDA, K. C.; PASSOS, X. S.; SOUZA, L. K. H.; LEMOS, J.A.; KHRAIS, C. H. A.; COSTA, C. R.; SILVA, M. R. R.; FERNANDES, O. F. L. **Identificação das leveduras do gênero *Candida* por métodos manuais convencionais e pelo método Cromógeno chromagar *candida*.** Revista de patologia tropical. Vol. 34 (1): 37-42. jan.-abr. 2005.

BARBEDO, L. S.; SGARBI, D. B. G. **Candidíase. DST – J bras Doenças Sex Transm 2010: 22(1): 22-38 - ISSN: 0103-4065 - ISSN on-line: 2177-8264.**

CAMARGO, F. P.; ALVES, I. A.; PARLOW, M, S.; GOULART, S. L. **Isolamento de *Candida* sp. da mucosa vaginal de mulheres atendidas em um serviço de ginecologia do município de Santo Ângelo – RS.** Newslab; 15: 96-104, 2008.

CANDIDO, R. C.; AZEVEDO, R. V. P.; KOMESU, M. C. **Enzimotipagem de espécies do gênero *Candida* isoladas da cavidade bucal.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 33(5):437-442, set-out, 2000.

CASTRO, K. F.; GARCIA, T. R.; SOUTO, C. M. R. M.; BUSTORFF, L. A. C. V.; RIGÃO, T. V. C.; BRAGA, V. A. B. **Intercorrências mamárias relacionadas à lactação: estudo envolvendo puérperas de uma maternidade pública de João Pessoa, PB.** O Mundo da Saúde, São Paulo: 2009;33(4):433-439.

CAVALCANTI, Y. W.; ALMEIDA, L. F. D.; PADILHA, W. W. N. **Screening da atividade antifúngica de óleos essenciais.** Odontol. Clín.-Cient., Recife, 10 (3) 243-246, jul./set., 2011. [www.crope.org.br](http://www.crope.org.br).

CHAVES, G. B.; SANTOS, M. S.; CAJUEIRO, S. D. **Avaliação do nível de conhecimento de discentes dos cursos superiores de saúde a respeito da candidíase vaginal.** Campina

Grande: REVISTA SAÚDE E CIÊNCIA, 2015; 4(1): 90-104.

GIOLLO, M. P.; SVIDZINSKI, T. I. E. **Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia.** J Bras Patol Med Lab, v. 46, n. 3, p. 225- 234, 2010.

GIUGLIANI, E. R. J. **Problemas comuns na lactação e seu manejo.** Jornal de Pediatria. Rio de Janeiro, v. 80, n. 5, p. S147-S154. 2004.

HAZEN, K. C. **New and emerging pathogen yeasts.** Clin Microbiol Rev 8: 462-478. 1995.

MENEZES, E. A.; GUERRA, A. C. P.; RODRIGUES, R. C. B.; M. M. L. V.; LIMA, L. S.; CUNHA, F. A. **Isolamento de *Candida* spp. no mamilo de lactantes do Banco de Leite Humano da Universidade Federal do Ceará e teste de susceptibilidade a antifúngicos.** J Bras Patol Med Lab • v. 40 • n. 5 • p. 299-305 • agosto 2004.

SANTOS, Evangelia Kotzias Atherino. **Curso de Especialização em Linhas de Cuidado em Enfermagem: Enfermagem na Atenção à Saúde da Mulher, do Neonato e à Família.** Alojamento Conjunto / Evangelia Kotzias Atherino dos Santos; Juliana Cristina dos Santos Monteiro; Maria Cândida de Carvalho Furtado; – Florianópolis (SC): Universidade Federal de Santa Catarina/Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, 2013. Acesso em 24/06/2016. Disponível em: [https://unasus2.moodle.ufsc.br/pluginfile.php/15343/mod\\_resource/content/4/Modulo8\\_SaudeMater na.pdf](https://unasus2.moodle.ufsc.br/pluginfile.php/15343/mod_resource/content/4/Modulo8_SaudeMater na.pdf).

TÔRRES, A. R.; OLIVEIRA, R. A. G.; DINIZ, M. F. F. M.; ARAÚJO, E. C. **Estudo sobre o uso de plantas medicinais em crianças hospitalizadas da cidade de João Pessoa: riscos e benefícios.** Rev Bras Farmacogn 15: 373-380. 2005.

VENDRUSCOLO, G. S.; RATES, S. M. K.; MENTZ, L. A. **Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul.** Rev Bras Farmacogn 15: 361-372. 2005.