

## ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS E EXTRATOS DE PLANTAS AMAZÔNICAS SOBRE *CANDIDA ALBICANS*

Tatiany Oliveira de Alencar Menezes<sup>1</sup>; Brenna Magdalena Lima Nogueira<sup>2</sup>; Sílvio Augusto Fernandes de Menezes<sup>3</sup>; José Maria dos Santos Vieira<sup>4</sup>; Ana Cláudia Braga Amoras Alves<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Doutora em Agentes Infecciosos e Parasitários; <sup>2</sup>Acadêmica de Odontologia; <sup>3</sup>Doutor em Odontologia; <sup>4</sup>Doutor em Farmácia; <sup>5</sup>Doutora em Biologia Patologia Buco Dental tamenezes@ufpa.br

Universidade Federal do Pará (UFPA); Centro Universitário do Estado do Pará (CESUPA)

**Introdução:** A candidíase é uma doença fúngica oportunista causada pela proliferação de espécies de *Candida*, principalmente *Candida albicans*. Grande quantidade de fármacos obtidos por meio da síntese orgânica têm sido utilizados no tratamento de infecções micóticas. Porém, as infecções fúngicas são de difícil tratamento, fato relacionado à elevada resistência da *Candida* frente à ação de alguns antifúngicos convencionais. Devido à ocorrência de fatores indesejáveis, como o surgimento de resistência de algumas cepas aos antifúngicos convencionais, o estudo de plantas com propriedades terapêuticas, abrangendo aquelas com atividade antimicótica, tem crescido consideravelmente. Na região Amazônica, tem-se uma das maiores biodiversidades, com um número satisfatório de óleos essenciais e extratos utilizados, popularmente, no tratamento de infecções fúngicas. Neste contexto, é válida a investigação *in vitro* da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos, presentes na região Amazônica, sobre a cepa padrão de *Candida albicans*. **Objetivos:** Investigar, *in vitro*, a ação de óleos essenciais e extratos, presentes na região Amazônica, sobre a cepa padrão de *Candida Albicans*; além de determinar a concentração inibitória mínima dos óleos e extratos que apresentarem atividade antifúngica. **Métodos:** A seleção das espécies vegetais incluídas neste estudo foi baseada em pesquisas desenvolvidas no Museu Paraense Emílio Goeldi, no Laboratório de Fitopatologia da EMBRAPA Amazônia Oriental - local de onde os óleos essenciais e extratos das espécies foram identificados e extraídos - e no Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Pará (UFPA). As espécies vegetais foram previamente selecionadas de acordo com a utilização e a crença da população da região Norte brasileira. Os óleos que tiveram sua atividade antifúngica avaliada foram: *Copaífera multijuga* (copaíba), *Carapa guianensis* (andiroba), *Piper aduncum* (pimenta-de-macaco), *Piper hispidinervum* (pimenta longa). Os extratos foram: *Annona glabra* (araticum-do-brejo), *Azadiractha indica* (Nim indiano), *Bryophyllum calycinum* (folha-de-pirarucu), *Eleutherine plicata* (marupazinho), *Mamea americana* (abricó), *Psidium guajava* (goiabeira), *Syzygium aromaticum* (carvo-da-índia). Foi utilizada a cepa de *Candida albicans* ATCC 90028, que é responsável por várias formas de infecções fúngicas e é recomendada como cepa padrão para testes de susceptibilidade antifúngica. Foram realizados repiques de *Candida albicans* em caldo Brain Heart Infusion- MERCK (BHI), incubado a 36 °C, durante 18 horas; em seguida, foi observada, microscopicamente, a morfologia celular em esfregaços das culturas coradas pelo método de Gram, para confirmação de cultura pura. Os óleos foram testados *in natura* (100%) e em diluições de 32, 16, 8, 4 e 2% para determinação da concentração inibitória mínima (CIM). A solução a 32% foi preparada com 1,6 mL de óleo + 0,04 mL de Tween 80 e água destilada esterilizada suficiente para completar 5 mL. As demais concentrações foram obtidas mediante diluições seriadas. A atividade antifúngica foi avaliada pelo método de difusão em meio sólido, utilizando-se cavidades em placa. Foram confeccionadas cavidades no meio de cultura

previamente semeado com suspensão de *Candida albicans*, com auxílio de cânulas de vidro estéreis (6 mm de diâmetro), onde foram inoculados 50 µl de cada diluição dos óleos testados. O sistema foi incubado a 36 °C, por 48 horas, em estufa bacteriológica. Foram realizadas duas leituras do halo de inibição: a primeira, após 24 horas de incubação, e a segunda, após 48 horas. Posteriormente, foi estabelecido como CIM a concentração do óleo capaz de desenvolver um halo de inibição do crescimento fúngico maior ou igual a 8 mm de diâmetro, medido por uma régua milimetrada. Os extratos liofilizados foram testados nas concentrações de 500, 250, 125 e 62,5 mg.mL<sup>-1</sup> dissolvidos em Dimetil-Sulfóxido (DMSO). A avaliação da atividade antifúngica foi realizada pelo método de difusão em meio sólido, utilizando-se discos de papel filtro (Whartman - tipo 3) de 6 mm de diâmetro, impregnados com 10 µL de cada concentração dos extratos das plantas testadas. Os discos foram colocados em placas de Petri, previamente inoculadas com 100 µl de suspensão fúngica, em meio de cultura específico (BDA). O sistema foi incubado a 36 °C, por 48 horas, em estufa bacteriológica. Foram realizadas duas leituras do halo de inibição: a primeira, após 24 horas de incubação, e a segunda, após 48 horas. Foi considerado o halo de inibição igual ou acima de 8 mm de diâmetro. Para o controle da viabilidade da cepa padrão de *Candida albicans* 90028, foi utilizada uma solução contendo apenas DMSO (controle negativo) e, como controle positivo, foi utilizada solução de nistatina, antifúngico convencional, na concentração de 50 µg.mL<sup>-1</sup>. Os extratos testados que apresentaram atividade antifúngica foram submetidos à CIM pela técnica de microdiluição em caldo. Os testes foram realizados em caldo Muller Hinton contidos em placa de microtitulação de 96 poços e analisados pelo leitor de ELISA (*Enzime Linked Immunosorbent Assay*). Foi considerada como CIM a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento antifúngico. **Resultados/Discussão:** Os óleos testados não apresentaram nenhuma atividade antifúngica. Apenas três extratos apresentaram atividade antifúngica frente à levedura *Candida albicans*. O extrato das folhas de *Eleutherine plicata* foi capaz de inibir o crescimento com a formação de um halo de inibição de 12 mm. Na determinação CIM o extrato foi ativo até a concentração de 250 mg.mL<sup>-1</sup>. Com o extrato das folhas de *Psidium guajava*, foi observada a formação de um halo de inibição de 17 mm. Na CIM o extrato foi ativo até a concentração de 125 mg.mL<sup>-1</sup>. Com o extrato do *Syzygium aromaticum* houve a formação de halo de inibição de 18 mm e a CIM foi de 62,5 mg.mL<sup>-1</sup>. Os demais extratos não apresentaram atividade contra *Candida albicans*. Discos com nistatina (antifúngico convencional) foram utilizados como controle positivo. Houve formação de um halo de inibição de 12 mm. Para avaliar a viabilidade do DMSO (dimetil-sulfóxido), foram utilizados discos contendo apenas DMSO, sendo considerado o controle negativo. Na avaliação antifúngica do extrato de *Psidium guajava* (goiabeira), foi constatada uma boa atividade antifúngica. Esse resultado está de acordo com outros trabalhos que avaliaram a atividade do extrato de *Psidium guajava* sobre cepas padrões de *Candida albicans*. Sabe-se que o principal princípio ativo do *Syzygium aromaticum* é o eugenol, que é um composto fenólico muito utilizado na Odontologia como componente de seladores e outros produtos antissépticos de higiene bucal. Entretanto, pesquisadores preocupados com a toxicidade do eugenol na cavidade oral realizaram um estudo, in vitro, para investigar os efeitos na formação do biofilme. Concluíram que o eugenol apresenta potente atividade, in vitro, contra *Candida albicans* e com baixa citotoxicidade. **Conclusão:** O extrato de *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) apresentou boa atividade antifúngica. O extrato de *Psidium guajava* (goiabeira) e de *Eleutherine plicata* (marupazinho) apresentaram moderada atividade antifúngica. Os demais não apresentaram atividade antifúngica. Os dados da

pesquisa podem servir como guia para seleção de plantas com atividade antifúngica, com possível aplicação terapêutica desses produtos.

#### **Referências:**

PACKER, I. O.; OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; FARIAS, N. M. O.; SOUZA, E. L. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *cândida*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Paraná, n. 17, p. 102-107, 2007.

BERTINI, L. M. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. **INFARMA**, v. 17, n. 4, p. 80-83, 2005.

HOLETZ, F. B. Screening of some plantes used in the brazilian folk medicine for the treatment of infctions diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, n. 97, p. 1027-1031, 2002.