

AValiação DA CAPACIDADE ANTIFÚNGICA DE *Brosimum gaudichaudii* Trécul SOBRE *Candida albicans*

*ANTIFUNGAL ACTIVITY EVALUATION OF *Brosimum gaudichaudii* Trécul ABOUT *Candida albicans**

Kênia Aparecida Rosa (ROSA, K. A.)

Discente do curso de Biomedicina, Faculdade Evangélica de Ceres, Ceres-GO

Email: keniaparecida@outlook.com

Maria Nayra Santos (SANTOS, M. N.)

Discente do curso de Biomedicina, Faculdade Evangélica de Ceres, Ceres-GO

Email: marianayramb@gmail.com

Carlos de Melo Silva Neto (NETO, C. M. S.)

Mestre em Biologia, Instituto de Ciências Biológicas II, Universidade Federal de Goiás.

Responsável técnico no Instituto Federal Goiano, Cidade de Goiás-GO, Brasil.

Email: carloskoa@gmail.com

Gilmar Aires da Silva (SILVA, G. A.)

Mestre em Química, Universidade Federal de Goiás. Docente do curso de Farmácia na Faculdade Evangélica de Ceres, Ceres-GO.

Email: gilmaraires@hotmail.com

Renata Silva do Prado (PRADO, R. S.)

Doutora em Medicina Tropical, Universidade Federal de Goiás. Docente dos cursos

Medicina, Farmácia, Biologia na UniEvangélica, Anápolis-GO.

Email: renata.ufg.prado@gmail.com

RESUMO

Introdução: Representantes do gênero *Candida* são classificados como microrganismos oportunistas. Algumas leveduras deste gênero têm alto potencial de virulência, sendo responsáveis por processos patológicos e infecciosos. A *Candida albicans* faz parte da microbiota normal, mas em estado de desequilíbrio pode causar danos. É preocupante o alto número de infecções provocadas pela espécie *C. albicans*. Possui distribuição no mundo todo e, devido a quantidade de pacientes imunocomprometidos, os casos de candidíase tem aumentado. Diante do surgimento de isolados resistentes, extratos vegetais com atividade antimicrobiana têm adquirido importância na busca por novas terapias para o tratamento de infecções fúngicas oportunistas, como a candidíase. A *Brosimum gaudichaudii* Trécul (mama-cadela) é amplamente utilizada na medicina popular, e já foi comprovada cientificamente sua eficácia contra bactérias isoladas de lesões de diabéticos. **Objetivo:** O presente trabalho verificou a capacidade antifúngica de extratos de caule de *B. gaudichaudii* Trécul sobre o fungo *C. albicans*. **Metodologia:** Foi realizado um estudo de abordagem indutiva, quali-quantitativa, com procedimento comparativo estatístico e técnica de documentação direta em laboratório. Foram realizados, teste de diluição em caldo, teste de sensibilidade em placa e teste de sensibilidade de disco de difusão para determinar a capacidade

inibitória sobre o fungo. **Resultados e discussão:** De acordo com os dados obtidos o extrato da referida planta não exerce atividade contra o crescimento de células leveduriformes de *C. albicans*, de acordo com as metodologias testadas. **Conclusão:** O extrato de *B. gaudichaudii* Trécul não inibiu o crescimento de *C. albicans* neste experimento.

Palavras-chave: Candidíase. Antifúngicos. *Brosimum gaudichaudii* Trécul. Plantas medicinais.

ABSTRACT

Introduction: Representatives of the genus *Candida* are classified as opportunistic microorganisms. Yeasts of this type have potential for virulence, being responsible for pathological and infectious processes. *Candida albicans* is part of the normal microbiota, but may be unbalanced at various levels. This is a high number of pathway provoked for spec. *C. albicans*. Distribution worldwide and due to a set of immunocompromised cases of candidiasis has increased. Faced with the emergence of isolated resistance, plant extracts with antimicrobial activity have acquired importance in the search for new therapies for the treatment of opportunistic fungal infections, such as candidiasis. The *Brosimum gaudichaudii* Trécul (mama-cadela) is widely used in folk medicine, and has already been scientifically applied against the isolated lesion of diabetic lesions. **Objective:** The present work was made antifungal of extracts of stem of *B. gaudichaudii* Trécul on fungus *C. albicans*. **Methodology:** A study of inductive, qualitative-quantitative, comparative statistical and direct laboratory teaching techniques was carried out. Broth dilution test, plate sensitivity test and diffusion capacity test were performed to determine the inhibition capacity of the fungus. **Results and discussion:** According to the data of the influence of the plant not exerted on the growth of yeast cells of *C. albicans*, according to the methodologies tested. **Conclusion:** *B. gaudichaudii* Trécul extract did not inhibit the growth of *C. albicans* in this experiment.

Keywords: Candidiasis. Antifungals. *Brosimum gaudichaudii* Trécul. Medicinal plants.

Endereço para correspondência:

Av. Brasil, Qd 13 Morada Verde, Ceres-Go. CEP: 76300-000

E-mail: marianayramb@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

2
3 As leveduras do gênero *Candida* apresentam uma importância significativa pela alta
4 frequência com que infectam e colonizam o hospedeiro. Tais microrganismos são comensais e
5 só se tornam patogênicos em decorrências de alterações como o comprometimento das barreiras
6 anatômicas por procedimentos médicos invasivos ou queimaduras e por desequilíbrios nos
7 mecanismos de defesa que podem ser decorrentes de mudanças fisiológicas como alterações do
8 pH vaginal (COLOMBO E GUIMARÃES, 2003).

9 Pacientes que passam por longos períodos internados tem maior probabilidade de
10 romper o equilíbrio do hospedeiro, tal como aqueles que há necessidade do uso diário de
11 cateteres, sondas, ou algum tipo de tratamento via parenteral, estando então mais propensos a
12 adquirir infecções causadas por representantes do gênero *Cândida* (OLIVEIRA et al, 2001).
13 Costa (2009) relata que, de cada treze pacientes que usam cateter, oito apresentaram infecção
14 por *C. albicans*, representado 61,6% destes pacientes.

15 As espécies de *Candida* vêm adquirindo uma significativa resistência às drogas
16 tornando-se cada vez mais necessário o teste de suscetibilidade dos isolados clínicos e pesquisas
17 a respeito dos mecanismos relacionados ao aparecimento da resistência. A partir disso é
18 imprescindível o surgimento de estratégias terapêuticas que atendam a esses novos grupos
19 (ZARDO E MEZZARI, 2004).

20 Dessa forma, o equívoco de que fitoterápicos só apresentam características benéficas,
21 coopera com a estatística que aponta o Brasil como ocupante do primeiro lugar entre os países
22 que mais apresentam números novos de intoxicações em seres humanos, e o segundo lugar nos
23 apontamentos de mortes causadas por intoxicação. Assim, surge a necessidade de se conhecer
24 e debater as práticas de saúde tradicionais profundamente ligadas a fatores históricos e culturais,
25 e suas implicações na saúde coletiva (NICOLETTI et al, 2007).

26 A *B. gaudichaudii* Trécul predomina no cerrado brasileiro e tem uma grande
27 importância econômica em tal região tanto pela venda e consumo *in natura* quanto na indústria
28 de papel. Entretanto sua aplicação mais comum é na medicina popular, que de forma empírica
29 faz uso das folhas, cascas, caule e raízes (FARIA et al, 2015). Atividades antibióticas,
30 analgésicas e anti-inflamatórias estão sendo estudadas e atividades antifúngicas foram
31 detectadas a partir do uso de substâncias presentes na raiz da planta. (JACOMASSI, 2006).

32 Devido ao aparecimento de cepas de *C. albicans* resistentes aos diversos antifúngicos
33 existentes, surge a necessidade de estudos aprimorados na busca por novos candidatos a

1 fármacos, a partir de produtos naturais. Propôs-se então verificar através de métodos
2 padronizados, a atividade antifúngica de *B. gaudichaudii* Trécul sobre *C. albicans*.

3 4 **METODOLOGIA**

5 6 **Coleta do material vegetal**

7 A coleta da casca do tronco de mama-cadela (*B. gaudichaudii* Trécul), foi feita na cidade
8 de Goiás – GO, situada na região do Vale do rio Vermelho. As amostras foram identificadas
9 por especialista botânico, coletando material de ao menos três indivíduos diferentes. O processo
10 de secagem das amostras foi realizado em esteiras sob a sombra e temperatura ambiente no
11 laboratório de microbiologia da Faculdade Evangélica de Ceres - Ceres, e armazenadas no
12 laboratório de coleções biológicas do IFG - Cidade de Goiás. As coletas de material botânico
13 são autorizadas pelo IBAMA com a licença ambiental do SISBIO (Número: 24365 -1).

14 15 **Obtenção dos extratos de *B. gaudichaudii***

16 De acordo com ALMEIDA e colaboradores (2015) com modificações, as amostras de
17 tronco de *B. gaudichaudii* Trécul foram pulverizadas, e após esse processo, armazenadas em
18 frasco âmbar contendo etanol (etanol 95%), sob refrigeração, durante sete dias. Posteriormente,
19 essa amostra foi filtrada e colocada em um agitador magnético com termostato para a
20 evaporação do solvente. O extrato resultante foi armazenado em um frasco âmbar ao abrigo da
21 luz, à 4°C.

22 23 **Cultivo e manutenção do fungo**

24 Seguindo a metodologia de ALMEIDA e colaboradores (2015), para a realização do
25 cultivo, a cepa de *C. albicans* ATCC (American Type Culture Collection – 90028) será
26 cultivada em meio Ágar Sabouraud Dextrose (Peptona 10g/L; Dextrose 40g/L; Ágar 15g/L),
27 meio recomendado para o cultivo de leveduras e fungos patogênicos. Após a solidificação do
28 meio, e posterior repique a cepa de *C. albicans* ficará mantida em estufa a 36°C por sete dias,
29 quando será submetida à experimentação ou novo repique.

30 31 **Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)**

32 Os ensaios de inibição foram realizados pelo método de macrodiluição de acordo com
33 a diretriz NCCLS M27-A2. Células leveduriformes de *C. albicans* foram mantidas em suas

1 fases de crescimento exponencial em meio Saboraud Dextrose líquido por três dias a 36°C e
2 inoculados em meio líquido nutriente, após 16 horas foi adicionado o extrato de *B. gaudichaudii*
3 Trécul. O crescimento do fungo foi avaliado espectrofotometricamente a 520 nm quando foi
4 possível determinar a CIM.

5

6 **Teste de Sensibilidade em placas**

7 Para o teste de sensibilidade, células leveduriformes de *C. albicans* com sete dias de
8 crescimento em ágar Saboraud Dextrose, foram colocadas em meio Nutriente sólido (Extrato
9 de Bife 1g/L; Extrato de Levedura 2g/L; Peptona 5g/L; Cloreto de Sódio 5g/L; Agar 15g/L)
10 suplementado com extrato de *B. gaudichaudii* Trécul em diferentes concentrações. A
11 concentração de células utilizada foi 10⁵. Placas de controle com drogas conhecidas foram
12 incluídas. As placas foram incubadas por sete dias a 36°C antes de serem fotografadas.

13

14 **Teste de sensibilidade por disco de difusão**

15 A potencial atividade microbiológica do extrato de *B. gaudichaudii* Trécul foi verificada
16 utilizando-se discos de difusão em Nutriente sólido. Discos de papel estéreis (diâmetro de 6
17 mm), foram embebidos previamente no extrato, em diferentes concentrações. Posteriormente,
18 foram inoculados 1,5x10⁸ células/mL de *C. albicans* em placas de meio Nutriente sólido, e em
19 seguida, os discos foram retirados dos tubos com uma pinça estéril, e colocados sobre as placas
20 contendo o meio. As placas foram incubadas em estufa, a 36°C, por 7 dias.

21

22 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

23

24 A *B. gaudichaudii* Trécul, popularmente conhecida como mama-cadela, predomina no
25 cerrado brasileiro e tem uma grande importância econômica em tal região tanto pela venda e
26 consumo in natura quanto na indústria de papel. Entretanto sua aplicação mais comum é na
27 medicina popular, que de forma empírica faz uso das folhas, cascas e raízes (LOURENÇO,
28 2001; FARIA et al, 2015).

29

30

31

32

33



3 FIGURA 1: Obtenção do extrato etanólico de caule de *Brosimum gaudichaudii* Trécul. Em A)
4 Caule; em B) Extato etanólico.

5

6 As amostras de tronco de *B. gaudichaudii* Trécul foram pulverizadas, e após tal
7 processo, foram submetidas ao etanol como solvente para a extração e armazenadas em frasco
8 âmbar, durante sete dias. Posteriormente, essa amostra foi filtrada em 4 etapas e colocada em
9 um agitador magnético para a evaporação do solvente. Desse modo, para 14 g da casca do
10 tronco, o percentual de rendimento do extrato foi de 0,35%, conforme observa-se na Tabela 1.

11

12 TABELA 1: Obtenção de extratos de *B. gaudichaudii* Trécul

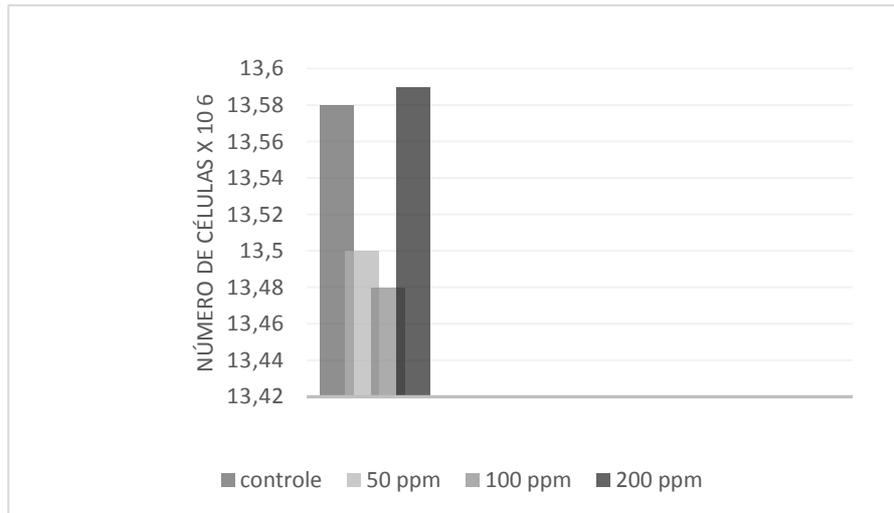
13

Espécie	Extrato	Massa(g)	EE(g)	Rendimento(%)
<i>B.gaudichaudii</i> Trécul	Caule	14g	0,05g	0,35%

14 *EE= Extrato etanólico

15

16 A determinação da CIM foi obtida através do teste de diluição em caldo. Assim, de
17 acordo com a diretriz NCCLS M27-A2 com modificações, para a determinação quantitativa da
18 CIM, diluições seriadas de soluções em estoque dos extratos da casca do tronco de *B.*
19 *gaudichaudii* Trécul foram testadas quanto ao crescimento de células de *C. albicans*. Os
20 resultados são mostrados na Figura 2.



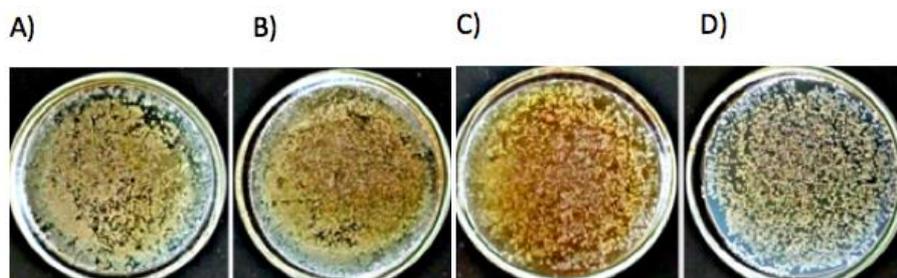
1

2 FIGURA 2: Teste de diluição em caldo, na presença de extrato etanólico de *B. gaudichaudii*
 3 Trécul, nas concentrações 50 ppm, 100 ppm e 200 ppm.

4

5 Analisando a figura 2 percebe-se a inviabilização do cálculo da CIM, visto que,
 6 quantitativamente não houve inibição do crescimento de *C. albicans* na presença de extrato
 7 etanólico de *B. gaudichaudii* Trécul em nenhuma das concentrações testadas. Em contrapartida,
 8 resultados de estudos realizados com amostra de cascas de *B. gaudichaudii* Trécul
 9 demonstraram atividade antimicrobiana contra microrganismos multirresistentes como
 10 *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, bactérias com alto grau de resistência à
 11 maioria dos antibióticos de amplo espectro e comumente encontradas em lesões de pés de
 12 pacientes com diabetes (BORGES, 2016).

13



14

15

16 FIGURA 3: Crescimento de *C. albicans* em meio ao extrato etanólico de *B. gaudichaudii*
 17 Trécul, nas concentrações de (A) 50 ppm, (B) 100 ppm e (C) 200 ppm. Em (D) placa controle
 18 de fungo crescido na ausência de extrato.

19

1 Observando a figura acima nota-se que no teste de sensibilidade em placa não houve
2 inibição do crescimento de *C. albicans* em nenhuma das concentrações do extrato etanólico de
3 *B. gaudichaudii* Trécul testadas.

4 Um estudo realizado por Borges (2016) descreve boa ação antimicrobiana do extrato das
5 folhas de *B. gaudichaudii* Trécul frente a bactérias gram positivas multirresistentes, e preconiza
6 a pesquisa do extrato da referida planta como candidato a agente antimicrobiano natural.
7 Martins (2016) também descreve a *B. gaudichaudii* Trécul como espécie promissora para o
8 tratamento de vitiligo, estimulando a produção de melanina, além de demonstrar menor
9 toxicidade celular, mutagenicidade e genotoxicidade quando comparada a compostos já
10 existentes.



11
12
13
14 FIGURA 4: Crescimento de *C. albicans* na presença de difusão embebidos em extrato etanólico
15 de *B. gaudichaudii* Trécul, nas concentrações de (A) 50 ppm, (B) 100 ppm e (C) 200 ppm.

16
17 De posse da imagem acima observamos que o extrato de *B. gaudichaudii* Trécul não
18 apresentou formação de halo de inibição sobre as cepas *C. albicans* em nenhuma das
19 concentrações testadas.

20 Fato diferente foi relatado por Silva e colaboradores (2011) onde evidenciou-se
21 atividade antifúngica de *B. gaudichaudii* Trécul a partir da concentração de 100mg/mL com
22 formação de halos de inibição que variavam de 11mm a 12 mm sobre espécies de *Candida* não
23 *albicans*. Demonstrou também no mesmo estudo atividade antifúngica superior a Nistatina na
24 maior concentração, com efetividade nas espécies não *albicans*.

25 26 CONCLUSÃO

27
28 Apesar de estudos recentes demonstrarem a ação antiproliferativa de *B. gaudichaudii*
29 Trécul, contra alguns microrganismos, foi comprovado neste trabalho através de testes
30 padronizados que o extrato da referida planta não exerce atividade contra o crescimento de
31 células leveduriformes de *C. albicans*, de acordo com as metodologias testadas.

1 AGRADECIMENTOS

2
3 Agradecemos ao CNPQ e a Funadesp pelas bolsas concedidas.
4

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6
7 ALMEIDA, K.L. et al. Atividade inibitória de *Androanthus serratifolius* (bignoniaceae) sobre
8 *Candida albicans*. **Revista Eletrônica da Faculdade de Ceres**, Goiás, v.4, n.2, 2015.
9

10
11 BORGES, J.C. **Atividade antimicrobiana de extrato de *Brosimum gaudichaudii* Trécul.**
12 **contra bactérias isoladas de lesões de pés diabéticos.** 2016. 90f. Dissertação (Mestrado em
13 Ciências da Saúde) – Faculdade de Biomedicina, Universidade Federal do Tocantins, Palmas,
14 TO, 2016.
15

16
17 COLOMBO, A.L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por
18 *Candida* spp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, São Paulo, v.36, n.5,
19 p. 599-607, 2003.
20

21
22 COSTA, C.R. **Fatores de virulência de isolados de *Candida* de pacientes**
23 **imunocomprometidos. Caracterização molecular de *Candida albicans* suscetíveis e**
24 **resistentes ao fluconazol.** 2009. 77f. Tese (Doutorado em medicina tropical e saúde pública)
25 – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, 2009.
26

27
28 FARIA, R.A.P.G et al. Phenology in *Brosimum gaudichaudii* Trécul.(Moraceae) in cerrado of
29 Mato Grosso state. **Ciência Florestal**, Mato Grosso, v.25, n.1, p.67-75, 2015.
30

31
32 JACOMASSI, E. **Morfoanatomia e histoquímica de órgãos vegetativos e reprodutivos de**
33 ***Brosimum gaudichaudii* Trécul (Moraceae).** 2006. 73f. Tese (Doutorado em Ciências
34 Biológicas) – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista Júlio de
35 Mesquita Filho, Botucatu, SP, 2006.
36

37
38 LOURENÇO, M.V. **Estudo comparativo dos constituintes químicos de *Brosimum***
39 ***gaudichaudii* e do medicamento V.** 2001. 120f. Tese (Doutorado em química) – Faculdade
40 de Engenharia Química, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara,
41 SP, 2001.
42

43
44 MARTINS, F.S. **Estudo sistemático da ação melanogênica do extrato de *Brosimum***
45 ***gaudichaudii* Trécul.** 2016. 30f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade
46 de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP,
47 2016

- 1 NICOLETTI, M.A. et al. Principais interações no uso de medicamentos
2 fitoterápicos. **Infarma**, São Paulo, v.19, n.1/2, p.32-40, 2007.
3
4
5 OLIVEIRA, R.D.R. et al. Infecção urinária hospitalar por leveduras do gênero Cândida.
6 **Revista da Associação Médica Brasileira**, Ribeirão Preto, v.47, n.3, p.231-235, 2001.
7
8
9 SILVA, S.M.F.Q. et al. Atividade in vitro de extratos brutos de duas espécies vegetais do
10 cerrado sobre leveduras do gênero Candida. **Ciência & Saúde coletiva**, Palmas, v.17, n.6,
11 p.1649-1656, 2011.
12
13
14 ZARDO, V.; MEZZARI, A. Os antifúngicos nas infecções por Candida sp. **NewsLab**, v.63,
15 p.136-146, 2004.