



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

**GÉSSICA DE SOUZA SILVA**

**ESTUDO DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE PLANTAS  
MEDICINAIS SOBRE ESPÉCIES DE *Candida* DE INTERESSE MÉDICO**

**CAMPINA GRANDE – PB  
2012**

**GÉSSICA DE SOUZA SILVA**

**ESTUDO DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE PLANTAS  
MEDICINAIS SOBRE ESPÉCIES DE *Candida* DE INTERESSE MÉDICO**

Trabalho de Conclusão de Curso na modalidade Artigo Científico apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Karlete Vania Mendes Vieira

CAMPINA GRANDE – PB  
2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

S586e Silva, Géssica de Souza.  
Estudo da ação antimicrobiana de extratos de plantas medicinais sobre espécies de Candida de interesse médico [manuscrito] / Géssica de Souza Silva. – 2012.  
22 f .  
  
Digitado.  
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2012.  
“Orientação: Profa. Dra. Karlete Vania Mendes Vieira, Departamento de Farmácia”.

1. Extratos hidroalcoólicos. 2. Candidíase. 3. Antimicrobianos . I. Título.

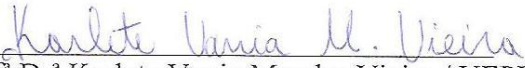
21. ed. CDD 615.4

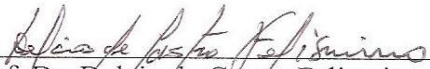
**GÉSSICA DE SOUZA SILVA**

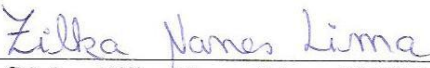
**ESTUDO DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE PLANTAS  
MEDICINAIS SOBRE ESPÉCIES DE *Candida* DE INTERESSE MÉDICO**

Trabalho de Conclusão de Curso na modalidade Artigo Científico apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Aprovada em 21/ 06/ 2012.

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Karlete Vania Mendes Vieira / UEPB  
Orientadora

  
Prof. Dr. Delcio de Castro Felismino / UEPB  
Examinador

  
Prof.<sup>a</sup> Msc. Zilka Nanes Lima / UEPB  
Examinadora

## ESTUDO DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE PLANTAS MEDICINAIS SOBRE ESPÉCIES DE *Candida* DE INTERESSE MÉDICO

Silva, Géssica de Souza<sup>1</sup>

### RESUMO

A candidíase caracteriza-se como a infecção fúngica oportunista mais frequente, sendo a *Candida albicans* seu agente etiológico de maior prevalência. Este estudo objetivou avaliar a atividade antifúngica de extratos frente às espécies de *Candida* isoladas de infecções vulvovaginal e oral. Foram selecionadas quatro plantas medicinais: confrei (*Symphytum officinale* L.), melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia* L.), romã (*Punica granatum* L.) e cravo-da-índia (*Syzigium aromaticum* L.), os extratos hidroalcoólicos foram formulados seguindo as recomendações da Farmacopéia Brasileira. Para avaliação da atividade antifúngica foram utilizadas cepas padrão American Type Culture Collection (ATCC) de *Candida albicans* (ATCC 18804), *C. parapsilosis* (ATCC 22019), *C. krusei* (ATCC 34135), *C. tropicalis* (ATCC 13803), *C. guilhermondii* (ATCC 6260), disponibilizadas pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ – RJ). Os ensaios de avaliação da atividade antifúngica para o extrato bruto e para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foram realizados pelo método de difusão em ágar, método cavidade-placa. Os extratos de Romã (*Punica granatum* L.) e Cravo-da-índia (*Syzigium aromaticum* L.) foram os mais ativos. A inibição do crescimento mostrou-se homogênea, havendo uma diminuição proporcional dos halos à medida que a concentração do extrato foi diminuída. Os resultados indicam os referidos extratos como opções, para obtenção de formas farmacêuticas naturais viáveis.

**PALAVRAS-CHAVE:** Candidíase. Extratos hidroalcoólicos. Concentração Inibitória Mínima.

<sup>1</sup>Acadêmico de Farmácia. Universidade Estadual da Paraíba. Email: silva-gessica@hotmail.com

## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a resistência de micro-organismos patogênicos a múltiplas drogas tem aumentado devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos, utilizados no tratamento de doenças infecciosas (SILVA *et al.*, 2010). As pesquisas com propósito de obter novos medicamentos a partir de plantas, ou de aprimorar fitoterápicos já existentes, vêm reassumindo papel importante nos últimos anos (SILVEIRA *et al.*, 2009). Assim, torna-se necessário restringir o uso de antimicrobianos, ampliar pesquisas relacionadas aos mecanismos genéticos de resistência microbiana e desenvolver estudos relativos a novos medicamentos, sintéticos ou naturais, capazes de combater esses micro-organismos (COSTA *et al.*, 2009).

Os processos infecciosos causados por agentes microbianos oportunistas são muito frequentes no Brasil. A candidíase vulvovaginal (CVV), juntamente com a candidíase oral, são consideradas as duas formas mais comuns de infecções fúngicas oportunistas (HOLANDA *et al.*, 2007). Com certa frequência, as infecções produzidas por fungos são difíceis para responderem à terapêutica medicamentosa. Este fato está associado à complexidade da própria micose, do agente etiológico, a fatores predisponentes envolvidos e aos efeitos não desejáveis dos antifúngicos (SILVA *et al.*, 2011).

O gênero *Candida* compreende cerca de 150 espécies de fungos (SILVA *et al.*, 2011). A candidíase caracteriza-se como a infecção fúngica mais comum, sendo *C. albicans* seu agente etiológico mais frequente e é a espécie mais prevalente isolada do corpo humano, como comensal ou patógeno oportunista (LIMA *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2011).

O aumento prevalente de micro-organismos resistentes aos antimicrobianos bem como o aparecimento de efeitos indesejáveis de alguns fármacos faz com que a busca por novos agentes antimicrobianos seja uma importante estratégia no estabelecimento de terapias alternativas para infecções de difícil tratamento (COSTA *et al.*, 2009).

Torna-se claro a importância das plantas medicinais para manutenção da saúde humana e, em virtude das complicações que dificultam o tratamento antimicrobiano, muitos trabalhos vêm sendo realizados em busca de novas plantas com potencial terapêutico, dentre elas: Confrei (*Symphytum officinale* L.), Melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia* L.), Romã (*Punica granatum* L.) e Cravo-da-índia (*Syzigium aromaticum* L.), as quais são objetos

deste estudo. Seus extratos vêm demonstrando, *in vitro*, atividade contra diferentes micro-organismos.

A vasta oferta da biodiversidade encontrada no Brasil aliada à resistência aos medicamentos, consolida o uso de plantas como primeiro recurso utilizado no tratamento de diversas enfermidades, sendo muitas vezes, este uso feito de forma empírica, sem suas propriedades farmacológicas comprovadas. A cultura popular sobre o uso e eficácia das plantas medicinais é relevante para a investigação *in vitro* de meios alternativos na terapêutica de muitos processos infecciosos.

As propriedades farmacológicas das plantas medicinais têm sido confirmadas de forma mais assídua; porém, proporcionalmente ao aumento dos estudos comprobatórios está a resistência aos antimicrobianos conhecidos. Dessa forma, tal estudo justifica-se não apenas pela possibilidade de uma determinada planta se constituir em recurso terapêutico alternativo, mas ainda devido às perspectivas de se isolarem substâncias que apresentem eficácia significativa, com menor índice de desvantagens (MENEZES *et al.*, 2009) podendo proporcionar menor custo, menor toxicidade, efeitos colaterais mais brandos e maior disponibilidade de matéria-prima.

É evidente a necessidade de pesquisas que avaliem as potencialidades farmacológicas, assim como a toxicidade dessas plantas para que possam ser indicadas para uso na rede pública de saúde (ALMEIDA *et al.*, 2009).

Neste contexto, faz-se necessária a investigação sobre as plantas medicinais difundidas e utilizadas tradicionalmente por diversas culturas. Este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica de extratos hidroalcoólicos frente às espécies de *Candida* relacionadas às candidíases vulvovaginal e oral.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 PLANTAS MEDICINAIS

O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos (MACIEL *et al.*, 2002). A World Health Organization (WHO) considerou que no mundo aproximadamente 80% de uma população de 4 bilhões dependem principalmente da medicina tradicional para seus cuidados primários de saúde a partir do uso de extratos de plantas ou de seus princípios ativos (CAETANO *et al.*, 2002).

Diversas plantas são utilizadas para prevenção e cura de muitos processos infecciosos. Entre as plantas medicinais mais utilizadas pela população poucas têm ação comprovada (MICHELIN *et al.*, 2005). Em geral a escolha de uma determinada planta medicinal é feita através da abordagem etnofarmacológica (MACIEL *et al.*, 2002), uma vez que esta economiza tempo e dinheiro aos pesquisadores.

No Brasil, bem como em outros países da América Latina, a fitoterapia constitui-se em uma alternativa terapêutica econômica em relação aos medicamentos alopáticos uma vez que caracteriza-se pela utilização direta de plantas no tratamento das doenças (CARVALHO *et al.*, 2002). Além da comprovação da ação terapêutica de várias plantas utilizadas popularmente, a fitoterapia representa parte importante da cultura de um povo, sendo também parte de um saber utilizado e difundido pelas populações ao longo de várias gerações (TOMAZZONI; NEGRELLE; CENTA, 2006).

A verificação de fitoconstituintes presentes nos extratos com atividade farmacológica vem sendo um dos principais desafios para indústria de medicamentos, de modo que o uso das plantas seja realizado de forma orientada, para que este tenha verdadeira eficácia terapêutica e não cause reações adversas. A utilização das plantas pela medicina popular, particularmente seu uso em medicina veterinária e a divulgação dos êxitos, conduziram a exploração científica, proporcionando um conhecimento químico-farmacológico de milhares de plantas (SILVA *et al.*, 2011).



## 2.2 CANDIDÍASE

A candidíase vulvovaginal (CVV) é um distúrbio ocasionado pelo crescimento anormal de fungos do tipo leveduras na mucosa do trato genital feminino. Trata-se de uma infecção de vulva e vagina, causada por leveduras comensais que habitam a mucosa vaginal bem como as mucosas digestiva e respiratória (ÁLVARES; SVIDZINSKI; MÁRCIA, 2007). Para o tratamento de CVV têm sido empregados os agentes imidazólicos e triazólicos, entre eles fluconazol, miconazol, clotrimazol, itraconazol e cetoconazol, além dos agentes poliênicos como a nistatina e algumas formulações contendo anfotericina B (FERRAZZA *et al.*, 2005). No entanto, a maioria dos antifúngicos utilizados clinicamente sofre de vários inconvenientes em termos de toxicidade, interações medicamentosas, falta de eficácia fungicida, custo e surgimento de cepas resistentes, causados pelo uso freqüente de alguns deles (PINTO *et al.*, 2009).

As espécies de *Candida* são também comensais da microbiota bucal de boa parte da população. Entretanto, sob determinadas condições, podem comportar-se como patógenos oportunistas, produzindo infecções que vão desde lesões mucosas superficiais até disseminações sistêmicas graves e invasivas, potencialmente fatais em pacientes imunocomprometidos (COSTA *et al.*, 2009).

O uso prolongado de antimicrobianos pode alterar a microbiota normal vulvovaginal e bucal proporcionando o crescimento de micro-organismos potencialmente patogênicos. Assim, torna-se necessário restringir o uso de antimicrobianos, ampliar pesquisas relacionadas aos mecanismos genéticos de resistência microbiana e desenvolver estudos relativos a novos medicamentos, sintéticos ou naturais, capazes de combater esses micro-organismos (COSTA *et al.*, 2009).

Dessa forma, a procura de novas drogas antimicrobianas tem sido constante, com ênfase em produtos naturais, com verdadeira eficácia e menor toxicidade aos usuários. Assim, a pesquisa com extratos, frações e óleos essenciais oriundos de espécies vegetais visa a uma possível aplicação racional de princípios ativos no tratamento de infecções (ARAÚJO *et al.*, 2004).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 OBTENÇÃO E COLETA DO MATERIAL VEGETAL

As plantas medicinais utilizadas foram: confrei (*Symphytum officinale* L.), melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia* L.), romã (*Punica granatum* L.) e cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.).

As referidas espécies foram coletadas no Horto Florestal Lauro Pires Xavier e nas mediações da Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande – PB, respeitando-se a época e o horário ideal de coleta, foram identificadas e reconhecidas por um botânico. Tendo como exceção o cravo-da-índia, que por sua indisponibilidade na região, foi obtido por compra direta, com laudo de certificação do IBAMA. No laboratório de Botânica, sob orientação farmacobotânica foi realizada a identificação etnobotânica das referidas plantas, através das exsiccatas já confeccionadas e registradas, o confrei apresenta-se sob registro no herbário da UEPB, Herbário Manoel de Arruda Câmara (ACAM), sob o número 234, a romã sob o número 458 e o melão-de-são-caetano com número de registro 03. O cravo-da-índia não possui registro pela dificuldade supracitada.

O processo de secagem das plantas foi realizado no laboratório de Farmacognosia, da UEPB.

#### 3.2 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS

O extrato hidroalcoólico foi formulado seguindo as recomendações da Farmacopéia Brasileira (1959). Para produção do extrato do confrei e melão-de-são-caetano foram utilizadas as folhas do vegetal, da romã utilizou-se a casca e do cravo-da-índia, os botões florais. As partes frescas indicadas para uso do vegetal foram acondicionadas em sacos de papel tipo Kraft, submetidas à secagem, em estufa com renovação e circulação de ar, à temperatura de 40 °C, até estabilização da umidade, sendo, então, trituradas até a forma de pó.

A extração utilizou como solvente o álcool etílico a 70%, na concentração 1:1 droga/solvente. Após sete dias de incubação em recipiente âmbar adequado, o material líquido resultante foi concentrado através da evaporação do solvente excedente.

### **3.3 CEPAS MICROBIANAS**

Para avaliação da atividade antifúngica dos extratos obtidos, a partir das espécies vegetais coletadas, foram utilizadas cepas padrão American Type Culture Collection (ATCC) de *Candida albicans* (ATCC 18804), *C. parapsilosis* (ATCC 22019), *C. krusei* (ATCC 34135), *C. tropicalis* (ATCC 13803), *C. guilhermondii* (ATCC 6260), disponibilizadas pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ – RJ). As cepas foram mantidas em caldo BHI a uma temperatura de 4°C, sendo utilizados para os ensaios repiques de 24 horas em Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) incubados a 37°C.

### **3.4 MEIO DE CULTURA**

O meio de cultura utilizado para realização dos testes de sensibilidade das leveduras aos extratos vegetais produzidos foi o meio Ágar Sabouraud Dextrose, disponível comercialmente, sendo reidratado conforme as especificações do fabricante.

### **3.5 PREPARAÇÃO DA SUSPENSÃO MICROBIANA**

O inóculo de leveduras foi adaptado e padronizado segundo a CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), através de cultivo de 24 h em placas de ágar Sabouraud, onde uma alçada das leveduras, de colônias isoladas, foi suspensa em solução salina disposta em tubos de ensaio. No estudo da atividade antimicrobiana utilizou-se um inóculo fúngico de

aproximadamente  $1,5 \times 10^6$  UFC/mL, padronizado de acordo com a turbidez do tubo 0,5 da escala de McFarland.

### **3.6 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS DE DIFUSÃO EM MEIO SÓLIDO “MÉTODO DO POÇO”**

Os ensaios de avaliação da atividade antifúngica dos extratos hidroalcoólicos foram realizados pelo método de difusão em meio sólido utilizando cavidades. O meio de cultura Ágar Sabouraud Dextrose preparado foi distribuído uniformemente nas placas, sendo estas dispostas em superfície niveladas para assegurar que a camada de meio tenha profundidade uniforme, tendo em média 60 mL de meio de cultura em cada placa.

Adaptado de Silveira *et al.* (2009), com um *swab* estéril, o inóculo bacteriano com turvação 0,5 da escala de MacFarland foi distribuído uniformemente sobre a superfície do ágar, deixadas em repouso em temperatura ambiente, por aproximadamente 3 minutos. Foram feitos poços de 6 mm de diâmetro, sendo dispensado em cada poço devidamente identificado, 50 µL do controle negativo, assim como do extrato, utilizado-se uma pipeta automática. As placas foram incubadas em estufa a 37°C por 24 – 48 horas. Como controle positivo foi utilizado nistatina em disco. Os testes foram realizados em duplicata.

Essa técnica explora a difusão de substâncias no ágar a partir de uma cavidade preenchida com o extrato produzido. Após o período de incubação a leitura dos testes procedeu-se medindo em milímetro o diâmetro dos halos de inibição ao redor do poço com o auxílio de um halômetro. Foram considerados como possuidores de atividade antimicrobiana, os extratos que quando aplicados sobre o meio de cultura, contendo a suspensão do micro-organismo, apresentaram um halo de inibição do crescimento, caracterizado por uma zona de clareamento ao redor do poço, igual ou superior a 10 mm de diâmetro.

### **3.7 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)**

Os extratos vegetais que apresentaram atividade antimicrobiana foram ensaiados para

determinação da CIM (MICHELIN *et al.*, 2005). A partir do extrato bruto (100%), realizou-se diluições seriadas de 50 % (1:2  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ), 25 % (1:4  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) 12,5 % (1:8  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) e, 6,25 % (1:16  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ). As diluições foram obtidas transferindo-se 5 mL do extrato bruto para 5 mL de solução salina 0,85% estéril em tubo, obtendo-se a diluição de 1:2  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  ou 50%, em seguida realizou-se o mesmo procedimento à partir da diluição 1:2  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para o tubo subsequente, repetiu-se este procedimento quatro vezes até obter a diluição de 1:16  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  ou 6,25%.

Após a inoculação do micro-organismo, foram realizadas perfurações no meio de cultura de aproximadamente 6 mm de diâmetro e nestas foram colocadas 50 $\mu$  L da solução do extrato diluído em água destilada, variando a diluição de 1:2 até 1:16. Como controle negativo utilizou-se álcool a 70%. E como controle positivo foi utilizado nistatina em disco. Em seguida, as placas foram incubadas a 37 ° C, por um período de 24 - 48 horas.

Após término do período de incubação, foi considerada como CIM a concentração do extrato hidroalcolico que desenvolveu um halo de inibição do crescimento fúngico maior ou igual a 10 mm de diâmetro. Os ensaios foram realizados em duplicata e o resultado final foi determinado pela média aritmética dos halos de inibição.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, observa-se a ação dos extratos hidroalcoólicos de Confrei (*Symphytum officinale* L.), Melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia* L.), Romã (*Punica granatum* L.) e Cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.), assim como da nistatina e do álcool a 70% sobre a *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. guilhermondii*. O extrato de romã apresentou potencial atividade antifúngica sobre todas as espécies de *Candida* ensaiadas, e o cravo-da-índia frente à *Candida parapsilosis*, *C. guilhermondii* e *C. tropicalis*.

TABELA 1. Ação dos extratos sobre as espécies de *Candida* testadas.

Extratos	Espécies de <i>Candida</i>				
	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida guilhermondii</i>	<i>Candida tropicalis</i>
Cravo-da-índia	-	<b>19 mm</b>	-	<b>20 mm</b>	<b>17,5 mm</b>
Melão-de-são-caetano	-	-	-	<b>9,5 mm</b>	-
Romã	<b>24 mm</b>	<b>26,5 mm</b>	<b>10 mm</b>	<b>30 mm</b>	<b>24,5 mm</b>
Confrei	-	-	-	-	-
Nistatina *	<b>10 mm</b>	<b>17,5 mm</b>	<b>10 mm</b>	<b>14,5 mm</b>	<b>20 mm</b>
Álcool a 70% **	-	-	-	-	-

\* Controle Positivo

\*\* Controle Negativo

Com base nos resultados obtidos a partir do extrato bruto (100%), procedeu-se a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), em relação à romã e ao cravo-da-índia. A Tabela 2 apresenta a ação dos extratos diluídos.

TABELA 2. Concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos que apresentaram atividade antifúngica na forma bruta (100%).

Espécies de <i>Candida</i>	Extratos hidroalcoólicos							
	Cravo-da-índia ( <i>Syzigium aromaticum</i> L.)				Romã ( <i>Punica granatum</i> L.)			
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:2	1:4	1:8	1:16
<i>Candida tropicalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida parapsilosis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida guilhermondii</i>	<b>10,5 mm</b>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida krusei</i>	*	*	*	*	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	*	*	*	*	-	-	-	-

\* Não apresentou atividade na forma bruta (100%).

A resistência aos antimicrobianos tornou-se um dos grandes problemas de saúde pública do mundo contemporâneo, a resistência progressiva tem despertado uma preocupação

mundial, principalmente na busca contínua de novos antimicrobianos (PALMEIRA *et al.*, 2010).

Um recurso promissor para a descoberta de novos agentes antifúngicos com menores efeitos colaterais advém das plantas, usadas na medicina popular, para tratamento de infecções fúngicas, nas quais os óleos e extratos obtidos há muito tempo têm servido de base para diversas aplicações terapêuticas (MENEZES *et al.*, 2009).

A maioria das plantas possui compostos que são antimicrobianos e as protegem de micro-organismos. A maior ou menor atividade biológica dos extratos hidroalcoólicos tem se mostrado dependente da composição de seus constituintes químicos presentes no vegetal. Nesse sentido, grande número de plantas tem sido investigado no seu potencial farmacológico, e o estudo de atividade antimicrobiana se constitui de grande importância devido o crescente problema de resistência de bactérias aos antimicrobianos em uso em terapêutica (SILVEIRA *et al.*, 2009).

Os resultados da pesquisa mostram que a inibição do crescimento dos micro-organismos testados mostrou-se homogênea, de acordo com o grau de concentração do extrato da planta, havendo uma diminuição dos halos à medida que a concentração do extrato foi diminuída, apresentado uma baixa efetividade antifúngica dos extratos diluídos quando comparado aos resultados obtidos com extratos a 100%, confirmando a observação por Macêdo-Costa *et al.* (2010) em sua pesquisa.

Menezes *et al.* (2009), observou que o extrato liofilizado de *Syzygium aromaticum* L.(cravo-da-índia), apresentou um halo de inibição de 18 mm frente à cepa de *Candida albicans* e uma concentração inibitória mínima (CIM) de 62,5 mg.mL<sup>-1</sup>, considerando o extrato com boa atividade antifúngica, segundo os critérios adotados em sua pesquisa, contradizendo os resultados encontrados, onde os halos de inibição presentes ou ausentes refletem diferenças metodológicas, incluindo a obtenção do extrato. O eugenol, principal constituinte químico do *Syzygium aromaticum* L., exibe comprovadas atividades como antibacteriano e antimicótico (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Pinto *et al.* (2009) estudou a ação do óleo essencial do cravo de *S. aromaticum* L. e seus resultados indicaram que o óleo de *S. aromaticum* L. tem interessante potencial como uma opção terapêutica contra fungos que são patogênicos para humanos, inibindo espécies de *Candida*, como *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*. A escolha do método extrativo dos princípios ativos das plantas medicinais confirma-se como fator



determinante da ação destes contra os micro-organismos.

Em uma pesquisa realizada por Ponzi *et al.* (2010), foram verificados halos de inibição na ordem 12 mm para *Candida albicans* e 10 mm para *Candida tropicalis* para o extrato hidroetanólico de *Momordica Charantia* L. (melão-de-são-caetano). Vários estudos têm apontado excelentes propriedades terapêuticas de extratos de plantas medicinais. Entretanto, a grande quantidade de micro-organismos testados, bem como de extratos provenientes de plantas, aliado a uma variedade de metodologias propostas, dificulta a comparação entre o presente trabalho e outros estudos.

Em sua pesquisa Michellin *et al.* (2005) observou que a levedura *Candida albicans* não foi inibida pelo extrato seco da romã (*Punica granatum* L.) opondo-se aos resultados mostrados por Werkman *et al.* (2008), que em seu trabalho, sobre aplicações terapêuticas da *Punica granatum* L. (romã), ressaltou o extrato alcoólico e metanólico como efetivo inibidor contra *Candida albicans*.

O resultado do presente estudo corrobora o estudo realizado por Pai *et al.* (2010) no qual o extrato de romã apresentou inibição da *Candida albicans*, eles apontaram a presença de taninos como inibidores microbianos.

Os resultados demonstram a eficácia do extrato da romã sobre as linhagens ensaiadas. Sendo todas as espécies sensíveis ao extrato hidroalcoólico de *Punica granatum* L, constatou-se halos de inibição que variaram de 10 a 30 mm.

A análise da literatura permite concluir que entre várias propriedades da romã, há destaque para a propriedade antimicrobiana (WERKMAN *et al.*, 2008).

Os halos de inibição de crescimento na presença do extrato de confrei (*Symphytum officinale* L.) mostraram ausência de atividade antimicrobiana. Bara & Vanetti (1998), trabalharam com extrato alcoólico da referida planta, onde confirmaram pouca ou nenhuma atividade do extrato frente às linhagens ensaiadas em sua pesquisa.

Os resultados observados para todas as leveduras testadas com o extrato de romã são de destaque quando comparados aos resultados do controle positivo que foi a nistatina, um antifúngico utilizado para tratamento convencional de infecções por estes fungos, conforme a Tabela apresentada.

O extrato de cravo-da-índia também apresentou melhor efeito inibitório contra *Candida parapsilosis* e *C. guilhermondii*, indicando maior atividade contra essas espécies.

Os resultados apresentados indicam um potencial efeito antifúngico dos extratos de

romã (*Punica granatum* L.) e cravo-da-índia (*Syzigium aromaticum* L.) sobre as espécies de *Candida* mencionadas, entretanto se faz necessário que novos estudos sejam desenvolvidos no tocante do isolamento de princípio ativo, dose, toxicidade e forma farmacêutica com o intuito desses extratos serem empregados como opção terapêutica de forma segura e estável, tendo em vista que esta fonte de obtenção de matéria-prima tem ocupado cada vez mais espaço no mercado, como um importante campo a ser estudado no sentido de obtenção de novas formas farmacêuticas viáveis.

No presente estudo, observa-se que dois dos extratos testados, confrei (*Symphytum officinale* L.) e melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia* L.), não apresentaram atividade antifúngica frente às espécies de *Candida*; porém, fatores importantes, como a técnica utilizada, o meio de crescimento, o micro-organismo, o material botânico, a colheita e a técnica de extração podem alterar o teor de princípio ativo presente no extrato, devendo esses aspectos serem levados em consideração e o fato de não ter sido verificado resultado positivo para a atividade antifúngica não invalida esta atividade e a possibilidade de novas pesquisas.

## 5 CONCLUSÃO

Dos extratos hidroalcoólicos testados, o extrato de romã foi eficaz sobre todas as linhagens ensaiadas e o cravo-da-índia foi ativo contra a *Candida parapsilosis*, *C. guilhermondii* e *C. tropicalis*. Entretanto, observa-se a necessidade de aprofundar essa e outras pesquisas com base nas plantas medicinais que resultem na produção de novos antifúngicos como meios alternativos, de baixo custo, com menos efeitos adversos ao organismo, mais acessíveis à população. Frente ao problema da resistência microbiana são necessários estudos para caracterização química, farmacológica e toxicológica que fundamentem o uso racional das plantas medicinais e garantam a eficácia e segurança destas substâncias.

## ABSTRACT

Candidiasis is characterized as the most frequent opportunistic fungal infection, *Candida albicans* being the etiological agent most prevalent. This study aimed to evaluate the antifungal activity of the extracts against *Candida* species isolated from oral and vulvovaginal infections. We selected four medicinal herbs: comfrey (*Symphytum officinale* L.), melon-to-be-Caetano (*Momordica charantia* L.), pomegranate (*Punica granatum* L.) and clove (*Syzygium aromaticum* L.) extracts hydroalcoholic were formulated following the recommendations of the Brazilian Pharmacopoeia. To evaluate the antifungal activity of strains used were standard American Type Culture Collection (ATCC) *Candida albicans* (ATCC 18804), *C. parapsilosis* (ATCC 22,019), *C. krusei* (ATCC 34,135), *C. tropicalis* (ATCC 13,803), *C. guilhermondii* (ATCC 6260), provided by the Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ - RJ). Tests for evaluating the antifungal activity for the crude extract and to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) were performed by the agar diffusion method, the cavity-plate method. The extracts of Pomegranate (*Punica granatum* L.) and clove (*Syzygium aromaticum* L.) were the most active. Growth inhibition was shown to be homogeneous, with a proportional decrease of halos as the concentration of the extract was reduced. The results show the extracts referred to as options, for obtaining pharmaceutical forms natural viable.

**KEYWORDS:** Candidiasis. Extracts hydroalcoholic. Minimum Inhibitory Concentration.

**REFERÊNCIAS:**

ALMEIDA, A. C.; SOBRINHO, E. M.; PINHO, L.; SOUZA, P. N. S.; MARTINS, E. R.; DUARTE, E. R.; SANTOS, H. O.; BRANDI, I. V.; CANGUSSU, A. S.; COSTA, J. P. R. Toxicidade aguda dos extratos hidroalcoólicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira e barbatimão e do farelo da casca de pequi administrados por via intraperitoneal. **Ciência Rural**, Santa Maria, Online, 2009.

ÁLVARES, C. A.; SVIDZINSKI, T. I. E.; MÁRCIA, E. L. C. Candidíase vulvovaginal: fatores predisponentes do hospedeiro e virulência das leveduras. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Vol. 43, nº 5, p. 319-327, Outubro/2007

ARAÚJO, J. C. L. V.; LIMA, E. O.; CEBALLOS, B. S. O.; FREIRE, K. R. L.; SOUZA, E. L.; FILHO, L. S. Ação antimicrobiana de óleos essenciais sobre microorganismos potencialmente causadores de infecções oportunistas. **Revista de patologia tropical**, Vol. 33 (1), 55-64, Jan.-jun, 2004.

BARA, M. T. F.; VANETTI, M. C. D. Estudo da atividade antibacteriana de plantas medicinais, aromáticas e corantes naturais. **Revista Brasileira Farmacognosia**, Vol.7-8, nº 1, São Paulo, 1998.

CAETANO, N.; SARAIVA, A.; PEREIRA, R.; CARVALHO, D.; PIMENTEL, M.C.B.; M.B.S. MAIA, M.B.S. Determinação de atividade antimicrobiana de extratos de plantas de uso popular como antiinflamatório. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Vol. 12, p. 132-135, 2002.

CARVALHO, A. A. T.; SAMPAIO, M. C. C.; SAMPAIO, F. C.; MELO, A. F. M.; SENA, K. X. F. R.; CHIAPPETA, A. A.; HIGINO, J. S. Atividade Antimicrobiana *in vitro* de Extratos Hidroalcoólicos de *Psidium guajava* L. sobre Bactérias Gram-Negativas. **Acta Farm. Bonaerense**, 21 (4): 255-8, 2002.

COSTA, A. C. B. P.; PEREIRA, C. A.; FREIRE, F.; JUNQUEIRA, J. C., JORGE, A. O. C. Atividade antifúngica dos extratos glicólicos de *Rosmarinus officinalis* Linn. e *Syzygium cumini* Linn. sobre cepas clínicas de *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Candida tropicalis*. **Revista de Odontologia da UNESP**, 38(2): 111-116, 2009.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. **Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão**: Norma Aprovada – Oitava Edição, NCCLS documento M2-A8, EUA, Vol. 23, nº 1, 2003.

**Farmacopéia Brasileira**. (1959). 2ª ed. São Paulo: Siqueira.

FERRAZZA, M. H. S. H.; MALUF, M. L. F.; CONSOLARO, M. E. L.; SHINOBU, C. S.; SVIDZINSKI, T. I. E.; BATISTA, M. R. Caracterização de leveduras isoladas da vagina e sua associação com candidíase vulvovaginal em duas cidades do sul do Brasil. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, 27(2): 58-63, 2005.

- GOBBO-NETO L.; LOPES N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim. Nova*, 30: 374-381, 2007.
- HOLANDA, A. A. R.; FERNANDES, A. C. S.; BEZERRA, C. M.; FERREIRA, M. Â. F.; HOLANDA, M. R. R.; HOLANDA, J. C. P.; MILAN, E. P. Candidíase vulvovaginal: sintomatologia, fatores de risco e colonização anal concomitante. *Rev Bras Ginecol Obstet.*, 29(1): 3-9, 2007.
- LIMA, I. O.; OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; FARIAS, N. M. P.; SOUZA, E. L. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2006.
- MACÊDO-COSTA, M. R.; PEREIRA, M. do S. V.; PEREIRA, L. F.; PEREIRA, A. V.; RODRIQUES O. G. Atividade Antimicrobiana e Antiaderente do Extrato da *Mimosa tenuiflora* (Willd). Poir. Sobre Microrganismos do Biofilme Dentário. *Pesq. Bras. Odontoped. Clin. Integr.*, João Pessoa, 9(2):161-165, 2009.
- MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; JÚNIOR, V. F. V.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Quim. Nova*, Vol. 25, nº 3, 429-438, 2002.
- MENEZES, T. O. A.; ALVES, A. C. B. A.; VIEIRA, J. M. S.; MENEZES, S. A. F.; ALVES, B. P.; MENDONÇA, L. C. V. Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de *Candida albicans*. *Revista de Odontologia da UNESP*, 38(3): 184-91, 2009.
- MICHELIN, D. C.; MORESCHI, P. E.; LIMA, A. C.; NASCIMENTO, G. G. F.; PAGANELLI, M. O.; CHAUD, M. V. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 15(4): 316-320, 2005.
- PAI, M.B.; PRASHANT, G.M.; MURLIKRISHNA, K.S.; SHIVAKUMAR, K.M.; CHANDU, G.N. Antifungal efficacy of *Punica granatum*, *Acacia nilotica*, *Cuminum cyminum* and *Foeniculum vulgare* on *Candida albicans*: An *in vitro* study. *Indian J Dent Res*, 21: 334-6, 2010.
- PALMEIRA, J. D.; FERREIRA, S. B.; DE SOUZA, J. H.; DE ALMEIDA, J. M.; FIGUEIREDO, M. C.; PEQUENO, A. S.; ARRUDA, T. A.; ANTUNES, R. M. P.; CATÃO, R. M. R. Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos hidroalcoólico de angico sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. *RBAC*, Vol. 42(1): 33-37, 2010.
- PINTO, E.; VALE-SILVA, L.; CAVALEIRO, C.; SALGUEIRO, L. Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of Medical Microbiology*, 58, 1454-1462, 2009.
- PONZI, E. A. C.; OLIVEIRA, T. L.; MORAIS, I. A. F.; JÚNIOR, J. J. DA S.; GERBI, M. M.; SOUZA, I. A.; PSIOTTANO, M. N. C.; XAVIER, H. S. Atividade antimicrobiana do extrato de *Momordica charantia* L. *Rev. Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-fac.*, Camaragibe. Vol. 10, nº 1, p. 89-94, 2010.

SILVA, V. A.; FREITAS, A. F. R.; PEREIRA, M. S. V.; OLIVEIRA, C. R. M.; DINIZ, M. F. F. M.; PESSÔA, H. L. F. Eficácia antifúngica dos extratos da *Lippia sidoides* Cham. e *Matricaria recutita* Linn. sobre leveduras do gênero *candida*. **Revista de Biologia e Farmácia**, Vol. 05, nº 1, 2011.

SILVA, V. A.; FREITAS, A. F. R.; PEREIRA, M. S. V.; SIQUEIRA JÚNIOR, J. P.; PEREIRA, A. V.; HIGINO, J. S. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana do extrato da *Lippia sidoides* Cham. sobre isolados biológicos de *Staphylococcus aureus*. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, Vol. 12, nº 4, p. 452-455, 2010.

SILVEIRA, L. M. S.; OLEA, R. S. G.; MESQUITA, J. S.; CRUZ, A. DE L. N.; MENDES, J. C. Metodologias de atividade antimicrobiana aplicadas a extratos de plantas: comparação entre duas técnicas de ágar difusão. **Rev. Bras. Farm.**, 90 (2): 124-128, 2009.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B.; CENTA, M. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto & Contexto Enferm.**, Florianópolis, 15(1): 115-121, 2006.

WERKMAN, C.; GRANATO, D.C.; KERBAUY, W.D.; SAMPAIO, F.C.; BRANDÃO, A.A.H.; RODE, S.M. Aplicações terapêuticas da *Punica granatum* L. (romã). **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, Vol. 10, nº 3, p.104-111, 2008.