



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA**

AGÉLISE PORTO TEIXEIRA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS EXTRATOS HIDROALCOOLICOS
DE *Citrus aurantium* L. e *Passiflora edulis* SOBRE AS ESPÉCIES DE CANDIDA
RELACIONADAS ÀS CANDIDÍASES ORAL E VULVOVAGINAL.**

**CAMPINA GRANDE – PB
2013**

AGÉLISE PORTO TEIXEIRA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS EXTRATOS HIDROALCOOLICOS
DE *Citrus aurantium* L. e *Passiflora edulis* SOBRE AS ESPÉCIES DE CANDIDA
RELACIONADAS ÀS CANDIDÍASES ORAL E VULVOVAGINAL.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado em forma de artigo científico ao Departamento de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito para obtenção do título de bacharel no curso de Farmácia.

Orientador (a): Prof^a. Dra. Karlete Vania Mendes Vieira

CAMPINA GRANDE – PB
2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

T266a

Teixeira, Agélide Porto.

Avaliação da atividade antifúngica dos extratos hidroalcoólicos de *Citrus Aurantium L.* e *Passiflora Edulis* sobre as espécies de candida relacionadas às candidíases oral e vulvovaginal [manuscrito] / Agélide Porto Teixeira. – 2013.
23 f.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia Generalista) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2013.

“Orientação: Profa. Dra. Karlete Vania Mendes Vieira, Departamento de Odontologia.”

1. Resistência microbiana. 2. Candidíase. 3. Atividade antifúngica. I. Título.


21. ed. CDD 616.9

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS EXTRATOS HIDROALCOOLICOS
DE *Citrus aurantium* L. e *Passiflora cincinnata* Mart. SOBRE AS ESPÉCIES DE CANDIDA
RELACIONADAS ÀS CANDIDÍASES ORAL E VULVOVAGINAL.**

AGÉLISE PORTO TEIXEIRA

Aprovado em: 05 / 09 / 2013

Banca Examinadora:



Prof^a Dr^a Karlete Vânia Mendes Vieira /UEPB
Departamento de Farmácia/CCBS/UEPB
Orientadora



Prof^a DSc. Delcio de Castro Felismino
Departamento de Biologia/CCBS/UEPB
Examinador



Prof. Dr. Thúlio Antunes Arruda /UEPB
Departamento de Farmácia/CCBS/UEPB
Examinador

DEDICATÓRIA

Dedico esta vitória a Deus, por ser meu guia na minha caminhada e renovar a minha fé a cada dia.

Aos meus pais, Nerivanda e Álvaro, e ao meu irmão, prova concreta, na minha vida, que sem amor não somos nada.

Ao meu namorado, Rafael, que sempre me ajudou quando precisei, seu amor tornou tudo mais fácil.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por ter permitido que eu concluísse mais uma etapa da minha vida e que permitiu que os obstáculos fossem ultrapassados.

Aos meus pais que são minha força e minha vida, que sempre me apoiaram nesta caminhada, meus amigos mais íntimos.

Agradeço a minha orientadora Prof^a Dr^a Karlete Vânia Mendes Vieira, pela oportunidade oferecida desde o início, apoio, confiança, companheirismo e paciência demonstrada durante toda a pesquisa. Uma pessoa maravilhosa, foi muito bom trabalhar com você!

Aos examinadores da banca Prof^a DSc. Delcio de Castro Felismino e Prof. Dr. Thúlio Antunes Arruda, que aceitam participar da minha defesa.

Ao meu namorado, Rafael, amigo e confidente, que sempre esteve comigo em todos os momentos que precisei e por ser tão paciente e compreensivo. Por todo o seu amor e dedicação... meu melhor presente.

As minhas irmãs de coração, Silvia, Lorena, Magdala e Klívia que estiveram em tantos momentos da minha vida.

As minhas amigas e companheiras de curso que tenho um carinho imenso, Ana Maria, Talita, Simone e Alana. Pessoas que levarei como amigas pelo resto da minha vida. Sem esquecer é claro de Lidgya, Adriano, Renata, Ayana e Felipe que também ocupam um lugar mais que especial em minha vida. Quantas confidências e risadas compartilhadas...

A todos os professores do Departamento de Farmácia, que foram fundamentais para que eu me tornasse uma Farmacêutica, obrigada pelos ensinamentos necessários a minha formação profissional.

Aos colegas do curso que tornaram esses 4 anos maravilhosos, que me acolheram quando cheguei no 3^o período, com exceção de Moema (Momi) que depois que me conheceu...mudou completamente de opinião (rsrsrsrs). Vivi momentos felizes dos quais jamais esquecerei.

A Augusto, técnico do laboratório de microbiologia, por ter sido tão prestativo e paciente.

Devo muito a todas as pessoas mencionadas aqui, intelectual e emocionalmente. A todos meu muito obrigado!

PENSAMENTO

“Olhai os lírios do campo, como eles crescem: não trabalham nem fiam; e eu vos digo que nem mesmo Salomão, em toda a sua glória, se vestiu como qualquer deles.”

Mateus XI, 28 a 30.

“A ciência não pode resolver o mistério final da natureza. E isto porque, em última análise, somos partes do mistério que tentamos resolver”

Max Plank

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS EXTRATOS HIDROALCOOLICOS DE
Citrus aurantium L. e *Passiflora edulis*. SOBRE AS ESPÉCIES DE CANDIDA RELACIONADAS ÀS
CANDIDÍASES ORAL E VULVOVAGINAL.**

TEIXEIRA, Agélide Porto¹
VIEIRA, Karlete Vania Mendes²

RESUMO

Diante da crescente resistência microbiana, em virtude da utilização incorreta e indiscriminada dos antimicrobianos surge a necessidade de se pesquisar novos agentes antifúngicos. Nesse sentido as plantas se destacam por possuir tais substâncias, tornando-se uma alternativa extremamente viável. *Citrus aurantium* L (laranja amarga) e *Passiflora edulis* (maracujá amarelo). Portanto, este estudo avaliou a atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólicos das folhas de *P. edulis* e *C. aurantium* L. frente à *Candida albicans* (ATCC 18804), *C. parapsilosis* (ATCC 22019), *C. krusei* (ATCC 34135), *C. tropicalis* (ATCC 13803), *C. guilliermondii* (ATCC 6260). Os referidos extratos foram obtidos pelo processo de maceração a frio. O *screening* microbiológico foi realizado através da técnica de difusão em meio sólido, pelo método cavidade-placa, em diluições seriadas de 50%, 25%, 12,5% e 6,25%, a partir do extrato bruto, sendo realizado em triplicata. Evidenciou-se que, nas condições do ensaio, as concentrações testadas não apresentaram atividade antifúngica.

Palavras-chave: Laranja amarga. Maracujá amarelo. Atividade antifúngica.

-
1. Acadêmica de Farmácia/Departamento de Farmácia/CCBS/Universidade Estadual da Paraíba. E-mail: agellise@gmail.com
 2. Professora Doutora/Departamento de Farmácia/CCBS/Universidade Estadual da Paraíba. E-mail: karletevieira@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

Diante da crescente resistência microbiana, vista nos últimos tempos, oriunda da utilização incorreta e indiscriminada dos microbianos usuais, torna-se importante o estudo de novas alternativas antimicrobianas. Visto que esse problema possui importantes implicações para a morbidade, mortalidade e saúde pública e que pacientes infectados por micro-organismos resistentes necessitam de maior tempo de permanência nos hospitais e doses de antimicrobianos mais potentes e mais caros, até mesmo mais tóxicos, situação que aumenta o risco de morte dos pacientes e os custos dos sistemas de saúde (CASTRO et al., 2002), portanto, tem-se a necessidade de descoberta de novos princípios ativos que possam ser utilizados como alternativa aos antimicrobianos atuais.

A pesquisa de extratos vegetais com ação antimicrobiana se apresenta como uma saída para o combate aos micro-organismos patogênicos, em razão do grande aumento de sua resistência a múltiplas drogas, resultante do uso indiscriminado de antimicrobianos, levando assim à procura dessas novas alternativas terapêuticas. Por esses motivos, a descoberta de novas moléculas, de fonte natural ou sintética, com atividade antimicrobiana tem sido foco de muitas pesquisas. A diversidade de moléculas encontradas em plantas faz das mesmas promissoras fontes de novos agentes antimicrobianos (SILVA et al., 2007; LEITÃO et al., 2006).

Citrus aurantium L, conhecida popularmente como laranja amarga. Seus frutos, flores e folhas têm sido usados na medicina popular para o tratamento de ansiedade, insônia e como anticonvulsivante (PULTRINI et al., 2005; CARVALHO-FREITAS e COSTA, 2002;).

A *Passiflora edulis*, conhecida como maracujá amarelo é uma espécie bastante cultivada, tanto pelo fruto saboroso como pela beleza de suas flores ornamentais. Na forma de infuso de folhas é usada pela população para combater ansiedade, insônia, epilepsia, febre, cefaléia, neuralgia, tosse, asma, diarréia e dor abdominal (GARROS, 2006).

Considerando a resistência das leveduras pertencentes ao gênero *Candida* frente aos antifúngicos atualmente utilizados, pode-se inferir que a pesquisa de busca de novos compostos antifúngicos de origem vegetal mostra-se de relevante

importância. É possível observar o potencial antibiótico que os produtos vegetais possuem, e por consequência, a real possibilidade de aplicação destes produtos na prevenção e tratamento de doenças infecciosas de origem fúngica.

Portanto o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antifúngica dos extratos hidroalcoólico obtido das folhas de *Citrus aurantium L.* e *Passiflora edulis* frente às espécies de candida relacionadas às candidíases oral e vulvovaginal.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A resistência de patógenos humanos a múltiplas drogas mostra a necessidade em se buscar novas moléculas antimicrobianas a partir de fontes naturais (LEITÃO et al., 2006). Dessa maneira, a crescente demanda por novos antimicrobianos tem levado a investigações fitoquímicas e farmacológicas de plantas, guiadas por informações sobre o uso tradicional etnobotânica (FILOCHE et al., 2005).

A pesquisa de novos agentes antimicrobianos se faz necessária devido ao surgimento de micro-organismos resistentes e de infecções oportunistas fatais, associadas a AIDS, quimioterapia antineoplásica e transplantes (PENNA et al., 2001). Os autores Barbosa et al. (2007), Leitão et al. (2006), Lima et al. (2006), Michelin et al. (2005) e Meng et al. (2000), acrescentaram que, o estudo de agentes antimicrobianos tem grande abrangência, sendo ponto crucial em vários setores do campo farmacêutico e cosmético. Enfatizando que, outro ponto a ser ressaltado é a utilização desse estudo como primeiro *screening* na descoberta da atividade farmacológica de novos agentes, sendo de extrema importância, principalmente em um país como o Brasil que oferece uma imensa biodiversidade. Portanto, desta forma, tais pesquisas podem contribuir significativamente no desenvolvimento do campo da saúde em nível mundial, encontrando substâncias mais eficazes e menos tóxicas na corrida contra a resistência e o surgimento de micro-organismos patogênicos.

Candidíase vulvovaginal (CVV) é uma infecção causada pelas várias espécies de *Candida*, fungos comensais das mucosas vaginal e digestiva, que podem tornar-se patogênicos, sob determinadas condições que alteram o ambiente vaginal (FIDEL,2002). A CVV é um dos diagnósticos mais frequentes em ginecologia (DAN, 2002; CORRIGAN, 1998;) sendo o tipo mais comum de vaginite aguda nos países tropicais. A incidência de CVV varia, indo de aproximadamente 25% na população feminina em geral a 42% entre mulheres adolescentes (RYLANDER, 2004; CORRIGAN, 1998). Em um estudo comparativo, foi observada uma incidência de 35,5% para as mulheres sintomáticas e de 15% para as assintomáticas de um grupo controle. Estudos apontam que 20 a 25% das mulheres adultas apresentam colonização assintomática e 75% delas, em algum momento, apresentam algum

episódio de infecção clínica em suas vidas (DAN, 2003; MARDH,2002; HAEFNER, 1999).

Candida albicans é um fungo comumente encontrado na cavidade oral, podendo estar presente na flora microbiana normal dos seres humanos, sendo a espécie oportunista mais frequentemente envolvida em infecções (MATTOS et al., 2009). É a espécie mais prevalente e de maior patogenicidade entre as cepas envolvidas com o desenvolvimento da candidíase bucal (AKPAN, MORGAN, 2002). As cepas *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii* também fazem parte do curso da doença e, junto a *C. albicans*, chegam a representar mais de 80% dos isolados clínicos (ANDRADE, 2006; AKPAN, MORGAN, 2002; CORRÊA,; NIKAWA, NISHIMURA, HAMADA et al., 1999).

Candida albicans seguida por *C. tropicalis* e outras espécies menos patogênicas como a *C. krusei* e *C. parapsilosis*, têm adquirido importância crescente no ramo da pesquisa (YANG, 2003). *C. albicans* possui a capacidade de aderir a superfícies e formar biofilmes (SILVA et al., 2008). Fatores de virulência são observados, tais como adesinas da parede celular, comutação fenotípica, formação de hifas e secreção de enzimas hidrolíticas, como as fosfolipases e enzimas proteolíticas (BRAGA-SILVA et al., 2009). Estas Candidas podem estar relacionadas com alguns fatores locais e sistêmicos que podem predispor a ocorrência da candidíase bucal, como imunocomprometimento, especialmente AIDS, alterações hormonais, uso de aparelhos ortodônticos, má-higiene de próteses dentárias e pacientes sob terapia antibiótica prolongada, Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) (NONOKA et al,2007; PATEL et al, 2008; RODRIGUES,2007).

Entretanto as infecções por candida podem ocorrer especialmente em pessoas imunocomprometidas causando infecção da membrana mucosa superficial, ou evoluir para um quadro de doença sistêmica. É importante analisar o processo dinâmico de formação e desenvolvimento de biofilmes causados por candida para uma melhor compreensão da patogenicidade e tratamento das doenças causadas por este fungo, devido a sua grande importância médica (SILVA et al., 2008).

A extensa biodiversidade da flora brasileira resulta em um número inestimável de espécies vegetais, as quais são utilizadas popularmente no tratamento de doenças (FENNER, BETTI, MENTZ et al., 2006). Por se tratar de um país de caráter tropical, as plantas produzem de três a quatro vezes mais constituintes químicos ativos quando comparadas às plantas de áreas onde o clima é temperado. Dessa

forma, as espécies vegetais brasileiras adquirem relevância na busca de produtos naturais com potencial atividade biológica, capazes de serem empregadas clinicamente para o tratamento de enfermidades.

A família *Passifloraceae* abrange mais de 650 espécies, destas cerca de 50 a 60 produzem frutos que podem ser consumidos *in natura*, sendo o gênero *Passiflora* o de maior expressividade (DONADIO et al, 2002). Existem algumas estimativas relatando que as espécies *Passiflora edulis* f. *Flavicarpa* Degener e *Passiflora edulis* Sims ocupam cerca de 90 % da área total cultivada de maracujá em todo mundo.

Para o maracujá, ao contrário do que se diz na cultura popular, não é o suco que provoca sonolência e tranquilidade nas pessoas, e sim as folhas que contém flavonoides e alcalóides, sendo a maracujina o alcalóide conhecido do maracujá. A base de extrato padronizado de maracujá vem sendo indicado no tratamento de insônia, irritação, agitação e impaciência nervosa, sintomas comuns da vida moderna, cujo cotidiano é normalmente repleto de situações críticas: excesso de atividade, problemas financeiros, falta de descanso e lazer, problemas de relacionamento, entre outros (LARZELERE, 2002).

O maracujá é fruto de numerosas espécies da família *Passifloraceae*, originária das regiões tropicais e subtropicais do continente americano. A mais comum delas é a *Passiflora edulis*, conhecida como maracujá amarelo. Esta espécie é bastante cultivada, tanto pelo fruto saboroso como pela beleza de suas flores ornamentais. Na forma de infuso de folhas é usada pela população para combater ansiedade, insônia, epilepsia, febre, cefaleia, neuralgia, tosse, asma, diarreia e dor abdominal. Outra forma de aplicação clínica da *Passiflora edulis* é seu preparo como cataplasma e loção, usado para tratar infecções e inflamações cutâneas (GARROS, 2006).

Citrus aurantium L., comumente conhecida como laranja-azeda, pertence à Família das Rutáceas. É uma árvore, com copa densa e esférica, de pequeno a médio porte, atingindo de 6 a 10 metros de altura, contem vitaminas (vitamina C), minerais (potássio) e fibras. É usada na medicina popular brasileira e em outros países para tratar ansiedade, insônia e como anticonvulsivante, sugerindo uma ação depressiva sobre o Sistema Nervoso Central (SNC), dentre outras propriedades (YU et al, 2005; CARVALHO-FREITAS, 2002). Além de serem ricas em vitamina C (ácido ascórbico) as frutas cítricas também contém outros compostos bioativos que incluem

flavonóides, cumarinas, e terpenóides (OTHA; HIROSE, 1966) com propriedades potenciais de promoção à saúde (YU et al, 2005).

A maioria dos antifúngicos clinicamente utilizados tem vários inconvenientes em termos de toxicidade, eficácia e custo, e sua utilização frequentemente leva ao aparecimento de espécies resistentes. Assim, existe uma grande demanda por novos antifúngicos de diferentes classes estruturais, agindo seletivamente sobre novas metas, com menos efeitos colaterais (MENEZES et al, 2009; ABAD, 2007;).

3 REFERENCIAL METODOLÓGICO

3.1 Caracterização das amostras

Foram analisadas as folhas da laranja (*Citrus aurantium* L.) e do maracujá (*Passiflora edulis*), na forma de extrato hidroalcoólico em cinco espécies de *Candida* causadoras de vulvovaginites e candidíase oral: *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* e *C. tropicalis*.

As amostras vegetais foram coletadas na microrregião de Pocinhos e Campina Grande, a partir de plantas adultas selecionadas, respeitando-se a época e o horário ideal de coleta. Em seguida, as partes foram discriminadas e acondicionadas, separadamente, em sacos de papel tipo Kraft e transportadas para os Laboratórios de Botânica e Farmacognosia da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), campus I.

3.2 Obtenção dos Extratos Vegetais

O extrato foi obtido no laboratório de Farmacognosia da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), campus I.

O preparo dos extratos hidroalcoólicos das referidas plantas seguiu orientação do processo da Farmacopéia Brasileira (SILVA, 1929), adaptado por YOUNES et al. (2000), onde a secagem do material vegetal foi inicialmente realizada à temperatura ambiente e completada em estufa a 50°C até obter-se um teor padrão de umidade de 20%. As folhas das plantas foram colocadas em contato com solução hidroalcoólica (álcool etílico 70%) durante uma semana, utilizando-se o método de percolação para realização da extração.

3.3 Atividade Antimicrobiana

3.3.1 Cepas Microbianas

Para avaliação da atividade antifúngica dos extratos, foram utilizadas cepas padrão American Type Culture Collection (ATCC) de *Candida albicans* (18804), *C. parapsilosis* (22019), *C. krusei* (34135), *C. tropicalis* (13803), *C. guilliermondii* (6260), as quais foram disponibilizadas pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ – RJ). As cepas liofilizadas foram reativadas, em câmara asséptica, seguindo as recomendações da referida Fundação.

3.3.2 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, até a obtenção de turvação igual à escala 0,5 de Mc Farland, que equivale a aproximadamente $1,5 \times 10^6$ UFC/mL.

3.3.3 Determinação da atividade antimicrobiana do extrato vegetal e da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

O meio de cultura foi distribuído uniformemente nas placas, sendo estas dispostas em superfície niveladas para assegurar que a camada de meio tenha profundidade uniforme, em média 60 mL, e cada placa, do meio de cultura Agar Sabourand Dextrose. Após a solidificação, as placas foram devidamente tampadas. O inóculo padronizado foi então disposto nas placas com o auxílio de um “swab” estéril, retirando o excesso de líquido comprimindo a ponta do “swab” nas paredes do tubo de ensaio, espalhando o conteúdo do “swab” sobre o meio de cultura sólido distribuído na placa de Petri.

A partir do extrato bruto (100%), foram realizadas 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 da forma obtida bruta 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 e realização dos poços, foram distribuídos 50 μL dos extratos das plantas nas concentrações referidas (100%, 50%, 25%, 12,5% e 6,25%).

Procedeu-se então a formação dos poços com ponteiros de 50 μL onde foram adicionados 50 μL do extrato das referidas plantas, assim como o controle negativo, correspondente a solução hidroalcoólica na mesma concentração do extrato testado. Como controle positivo foi utilizado a nistatina em disco. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C, durante um período de 24-48 horas. O ensaio foi realizado em triplicata.

Após o período de incubação a leitura dos testes foi realizada medindo em milímetro o diâmetro dos halos de inibição ao redor do poço com o auxílio de um

halômetro. O resultado final determinado pela média aritmética dos halos de inibição. Onde se considera como possuidora de atividade antimicrobiana, aquela concentração da substância que quando aplicado sobre o meio de cultura contendo a suspensão do micro-organismo, ocasiona um halo de inibição do crescimento, caracterizado por uma zona de clareamento, igual ou superior a 10 mm de diâmetro (Silva et al., 2003).

4 DADOS E ANÁLISE DA PESQUISA

Após a análise microbiológica dos estratos hidroalcoolicos de *Passiflora edulis* e *Citrus aurantium* L. nas condições do ensaio, constatou-se que não houve atividade antifúngica, em qualquer concentração analisada, uma vez que não foram observados halos de inibição frente às referidas cepas estudadas.

No estudo realizado com *Passiflora edulis* e *Citrus aurantium* L. não houve atividade antifúngica. Este estudo foi reforçado por Aresi (2011) com 22 extratos, entre eles cinco eram do gênero *Passiflora*, mostrando que todos os extratos testados não tiveram nenhuma atividade sobre *Candida albicans*. Galvão et al (2010) observaram pouco efeito inibitório antifungico sobre *Candida albicans* quando testados com extratos aquosos de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*. Em estudo realizado por Cavalcanti (2012) com óleo essencial da fruta de *Citrus aurantium* mostrou que houve atividade antifúngica contra *C. albicans*, *C. krusei* e *C. tropicalis*. Resultado análogo obtido com o extrato testado da folha de *Citrus aurantium*, fato que pode ser explicado pelo extrato utilizado.

A literatura mostra que a atividade antifúngica está relacionada aos tipos de compostos fenólicos presentes em uma ampla variedade de vegetais, como o do gênero *Citrus* (EJECHI, 1999; VELIOGLU, 1998; VINSON 1998). Os compostos fenólicos possuem comprovada ação antifúngica e esta pode ocorrer, entre outros mecanismos, pela inativação de sistemas enzimáticos do micro-organismo envolvidos na produção de energia e na síntese de componentes estruturais (PORTE, 2001). A atividade antioxidante dos extratos vegetais sobre a atividade da peroxidase pode indicar seu potencial de inibição do desenvolvimento fúngico (OLIVEIRA, 2007).

Diversos fatores como local de cultivo, pH do solo, solvente utilizado e características das cepas testadas, podem ter contribuído para o resultado do experimento. Essas conclusões são reforçadas por Cechinel-Filho (1998) ao observar que a biossíntese dos metabólitos secundários, também pode ser influenciada pelo período de coleta da planta, idade e órgão vegetal, e polaridade do solvente (MACHADO; FELISMINO; CHAVES, 2012). Esses fatores promovem diferenças de concentrações e proporcionalidade entre cada constituinte químico, podendo assim influenciar na elevação ou diminuição da produção dos princípios ativos dos vegetais.

Desta forma, a composição do solo, local de onde a planta retira os componentes essenciais, é de fundamental importância, os micro e macro nutrientes devem estar presentes em quantidade e proporção ideal, do contrário, não será atingida a produtividade esperada e a produção de nutrientes e componentes funcionais será limitada pelo elemento que está presente em quantidade proporcionalmente menor (NUTRIÇÃO, 2013).

A eficiência medicinal de um extrato vegetal não depende apenas de um único componente bioativo, mas do efeito sinérgico entre um composto principal e outros compostos secundários. Dessa forma, para se obter um extrato com excelente atividade biológica, deve-se levar em consideração o tipo de solvente utilizado e o procedimento de extração empregado (VINATORU et al., 1997). Outro aspecto, de acordo com CechinelFilho; Yunes (2001), é a instabilidade de substâncias ativas, que podem se degradar durante o processo de isolamento e se transformar em substâncias inativas.

Considerando a biodiversidade e o potencial das plantas no desenvolvimento de produtos terapêuticos, muitos estudos ainda se fazem necessários. Agra et al. (2008) observaram que 483 espécies de plantas com propriedades ativas são utilizadas na região Nordeste. Apesar do número expressivo de plantas medicinais em uso, para a maioria delas, ainda não foram desenvolvidos estudos científicos sobre os seus constituintes ativos. Do mesmo modo os estudos sobre a comprovação científica da eficácia de plantas medicinais para problemas bucais e vulvovaginais ainda são escassos.

5 CONCLUSÃO

O extrato das folhas da *Passiflora edulis* e *Citrus aurantium* L. se mostraram ineficazes frente aos micro-organismos testados.

Inúmeros fatores relacionados ao ambiente de cultivo, coleta, armazenamento, de forma isolada ou em conjunto, para a ausência de atividade antifúngica.

Sugere-se a realização de novos ensaios utilizando solventes com polaridades crescentes, análises microbiológicas com outras cepas microbianas e avaliar o potencial sinérgico, com o intuito de se buscar novas alternativas antimicrobianas.

EVALUATION OF THE ACTIVITY OF ANTIFUNGAL HYDROALCOHOLIC EXTRACTS *Citrus aurantium* L. AND *Passiflora edulis* ON CANDIDA SPECIES RELATED TO ORAL AND VULVOVAGINAL CANDIDIASIS.

TEIXEIRA, Agélide Porto¹
VIEIRA, Karlete Vania Mendes²

ABSTRACT

Given the increasing microbial resistance due to indiscriminate and misuse of antimicrobials arises the need to search for new antimicrobial agents. Accordingly plants are distinguished by possessing such substances, making it extremely viable alternative. *Citrus aurantium* L (bitter orange) and *Passiflora edulis* (passion fruit). Therefore, this study evaluated the antimicrobial activity of hydroalcoholic extracts of *P. edulis* and *C. aurantium* front of *Candida albicans* (ATCC 18804), *C. parapsilosis* (ATCC 22019), *C. krusei* (ATCC 34135), *C. tropicalis* (ATCC 13803), *C. guilhermondii* (ATCC 6260). The extract of the leaves was obtained by the process of cold maceration. The microbiological screening was performed through technique of diffusion in solid media, cavity-plate method, serial dilutions in 50%, 25%, 12.5% and 6, 25% from the crude extract being performed in triplicate. Showed that under the conditions of the test, the concentrations tested did not show antifungal activity.

Keywords: Bitter orange. Passion fruit. Antifungal activity.

-
1. Acadêmica de Farmácia/Departamento de Farmácia/CCBS/Universidade Estadual da Paraíba. E-mail: agellise@gmail.com
 2. Professora Doutora/Departamento de Farmácia/CCBS/Universidade Estadual da Paraíba. E-mail: karletevieira@gmail.com

REFERENCIAS

ABAD, M. J.; ANSUATEGUI, M.; BERMEJO, P. Active antifungal substances from natural sources. **ArkivocOnline**. v. 2, p.116-145, 2007.

AGRA, M.F. et al. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Rev Bras Farmacogn** v. 18, p.472-508, 2008.

AKPAN A, MORGAN R. Oral candidiasis. **Postgrad Med J.**, v.78, n.2, p. 455-9, 2002.

ARESI, C. **Avaliação da Potencial Atividade Antimicrobiana de Produtos de Origem Natural: Estudo Bioguiado de Dalbergia ecastaphyllum L. Taub.** Florianópolis, 2011. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Farmácia).

BARBOSA, J. M. F. et al. Natural products with antileprotic activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**.v.17: p.141-148, 2007.

BRAGA-SILVA L.A. et al. Trailing end-point phenotype antibiotic-sensitive strains of *Candida albicans* produce different amounts of aspartyl peptidases. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research.**, v.42, n.8, p. 765-770, 2009.

CARVALHO-FREITAS, M.I.R. e COSTA, M. Anxiolytic and sedative effects of extracts and essential oil from *Citrus aurantium*L. **Biological&Pharmaceutical Bulletin**, v.25, p.1629-1633, 2002.

CASTRO, M. S. *et al.* Trends in antimicrobial utilization in a university hospital, 1990-1996. **Revista de Saúde Pública**, v.36 n. 5, p. 553-558, 2002.

CAVALCANTI, Y.W. et al. Atividade Antifúngica de Extratos Vegetais Brasileiros sobre Cepas de *Candida* Antifungal Activity of Brazilian Plant Extracts Against *Candida* Strains. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**. v. 16, n. 1, p. 43-48, 2012.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. **Estudo químico de plantas medicinais orientado para a análise biológica.** Obtenção, determinação e modificação estrutural de compostos bioativos. In: YUNES, R. A.; FILHO, V. C. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Santa Catarina: Argos – Editora Universitária, 2001. p. 47-75.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R.A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.

CORRÊA, E.M.; ANDRADE, E.D. Tratamento odontológico em pacientes HIV/AIDS. **RevOdontoCiênc**, v.20, n.49, p.281-9, 2006.

CORRIGAN, E.M. et al. Cellular immunity in recurrent vulvovaginal candidiasis. **Clin Exp Immunol.** V.111, n.3, p.574-8, 1998.

DAN, M. et al. Vaginitis in a gynecologic practice in Israel: causes and risk factors. **Isr Med Assoc J.** v.5, n.9, p. 629-32, 2003.

DAN, M. et al. High rate of vaginal infections caused by non-*C. albicans* species among asymptomatic women. **Med Mycol.** v. 40, n.4, p.383-6, 2002.

EJECHI, B.O. et al Growth inhibition of tomato-rot fungi by phenolic acids and essential oil extracts of pepperfruit (*Dennetia tripetala*). **Food Res. Intern.** v. 32, n.6, p. 395-399, 1999

FENNER, R. et al. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Rev Bras Ciênc Farm,** v. 42, n.3, p.369-393, 2006.

FIDEL, P.L. Jr. Distinct protective host defenses against oral and vaginal candidiasis. **Med Mycol.** v.40, n.4, p.359-75, 2002.

FILOCHE, S.K.; SOMA, K.; SISSONS, C.H. Antimicrobial effects of essential oils in combination with chlorexidine digluconate. **OralMicrobiolImmunol.** v..20, n.4, p.221-5, 2005.

GALVÃO, K. C. S.et al. Análise da atividade inibitória de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* sobre *Candida albicans*. **Revista Biociências,** UNITAU, v. 16, n.2, 2010.

GARROS, I.C.;CAMPOS, A.C.L.; TÂMBARA, E. M. et al. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. **Acta Cir. Bras.** v.21 n.3, 2006.

HAEFNER, H.K. Current evaluation and management of vulvovaginitis. **Clin Obstet Gynecol.** v. 42, n.2, p.184-95, 1999.

KUSTER, R.M., ROCHA, L.M. 2003. **Cumarinas, cromonas e xantonas.** In: Simões CMO, Shenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR (org.) *Farmacognosia: da planta ao medicamento.* 5.ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, p.247-262.

LARZELERE, M.M., WISEMAN, P. Anxiety, depression and insomnia. **Primary Care** v. 29,p.339-360, 2002.

LEITÃO, S. G. et al. Screening of Central and South American plant extracts for antimycobacterial activity by the Alamar Blue test. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** v.16, p.6-11, 2006.

LIMA, M. R. F. et al.The antibiotic activity of some Brazilian medicinal plants. **Revista Brasileira de Farmacognosia** v.16: p.300-306, 2006.

- MACHADO, S. E. F.; FELISMINO, D. C.; CHAVES, T. P. **Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos fracionados de casca e folha da *Schinopsis brasiliensis engler* através de análise comparativa entre os métodos de difusão em disco e de cavidade em placa.** Campina Grande, 2012. Monografia (Curso de Farmácia). Departamento de Farmácia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba.
- MARDH, P.A. et al. Facts and myths on recurrent vulvovaginal candidosis-a review on epidemiology, clinical manifestations, diagnosis, pathogenesis and therapy. **Int J STD AIDS**. v.13, n.8, p.522-39, 2002.
- MATTOS, B. S. C.; SOUSA, A. A.; MAGALHÃES, M. H. C. G.; ANDRÉ, M.; DIAS, R. B.; *Candida albicans* in Patients with Oronasal Communication and Obturator Prostheses. **Braz Dent J.**, v.20, n.4, p 336-340, 2009.
- MENEZES, T.O.A. et al. 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**. v.38, n.3, p.184-91.2009.
- MENG, J. C.; ZHU, Q. X.; THAN, R. X. New antimicrobial mono and sesquiterpenes from *Soroseris Hookeriana* subsp. *Erysimoides*. **PlantaMed**. v. 66, p. 541-544, 2000.
- MICHELIN, D. C. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Rev Bras Farmacogn**, v. 15, p. 316-320, 2005.
- NIKAWA, H. et al. Effects of modified pellicles on *Candida* biofilm formation on acrylic surfaces. **Mycoses**, v.42, n.1, p. 37-40, 1999.
- NONAKA, C.F.W. Et al. *Candida dubliniensis*– emergent yeast associated with oral candidosis. **Rev Odontol UNESP**.v.7, p.125-31, 2008.
- NUTRIÇÃO DA PLANTA. **Tecnologias sociais de adaptação às mudanças climáticas.** Disponível em <:http://www.adaptasertao.net/uploads/conteudo/001%20%20Fundamentos%20planta%20-20Apostila%20t%C3%A9cnica.pdf>. Acesso: 06 de julho, 2013.
- OLIVEIRA, M.S. et al. Atividade antioxidante e Antifúngica de extratos vegetais. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.18, n. 2, p. 267-275, 2007.
- OTHA, Y.; HIROSE, Y. Constituents of Cold-Pressed oil of *Citrus natsudai* HAYATA. **Agric. Biol. Chem.**, v. 30: p. 1196-1201, 1966.
- PATEL, M. et al. Antifungal effect of mouth rinses on oral *Candida* counts and salivary flow in treatment-naïve HIV-infected patients. **AIDS Patient Care**. v.22, n.8, p.613-618, 2008.
- PENNA, C. et al. Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. **Journal of Ethnopharmacology**. v.77, p. 37-40, 2001.

- PORTE, A.; GODOY, R.L.O. Alecrim (*Rosmarinus offi cinallis* L.): Propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial. **B. CEPPA**, Curitiba, v. 19, n. 2, p.193-210, 2001
- PULTRINI, A.M.; GALINDO, L.A.; COSTA, M. Effects of the essential oil from *Citrus aurantium*L. in experimental anxiety models of mice. **Life Sciences**, v.18, n.15, p.1720-1725, 2005.
- RODRIGUES, G. M. C. et al. Estudo de colonização por *Candida* sp. na cavidade oral de indivíduos soropositivos e soronegativos para HIV-1 no noroeste Paulista, Brasil. **Rev Panam Infect**, v. 9, n. 3, p. 26-31, 2007.
- RYLANDER, E. et al. Vulvovaginal candida in a young sexually active population: prevalence and association with oro-genital sex and frequent pain at intercourse. **Sex Transm Infect**. v.80, n.1, p.54-7, 2004.
- SILVA, J.G.D. et al. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.17, n.4, p. 572-577, 2007.
- SILVA, M.A.R. Influência do extrato da romã (*Punica granatum* Linn.) sobre plasmídeos nos processos de cura e transmissibilidade genética de *Staphylococcus aureus* de origem bovina. **49° Congresso Brasileiro de Genética**, Gramado, Brasil, 2003.
- SILVA, W. J. et al. Improvement of XTT Assay Performance for Studies Involving *Candida albicans* Biofilms. **Braz Dent J.**, v 19, n.4, p 364-369, 2008.
- VELIOGLU, Y. S. Antioxidant activity and total phenolic in selected fruits, vegetables, and grain products. **J. Agric. Food Chem.**, v. 46, p. 4113-4117, 1998.
- VINATORU, M. et al. The ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.4, p. 135-9, 1997
- VINSON, J. A. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. **J. Agric. Food Chem.**, v. 46, p. 3630-3634, 1998.
- YANG, Y.L. Virulence factors of *Candida* species. **Journal of Microbiology Immunology and Infection** v.3, p.223-228, 2003.
- YU, J. et al. Antioxidant activity of *Citrus* limonóides, flavonoids and coumarins. **J. Agric. Chem**, v. 53: p. 2009-2014, 2005.