



## **Estudo In Vitro do Potencial Antifúngico do Extrato Aquoso de *Arctium lappa* L. sobre espécies do gênero *Candida***

**Autor(es):** LUBIAN, Camila Teresa; TEIXEIRA, Jane Maria; LUND, Rafael Guerra; NASCENTE, Patricia; DEL PINO, Francisco Augusto Burkert

**Apresentador:** Camila Teresa Lubian

**Orientador:** Rafael Guerra Lund

**Revisor 1:** Marlete Brum Cleff

**Revisor 2:** Helen Silveira Coimbra

**Instituição:** UFPEL

### **ESTUDO *IN VITRO* DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DO EXTRATO AQUOSO DE *Arctium lappa* L. SOBRE ESPÉCIES DO GÊNERO *Candida***

**LUBIAN, Camila Teresa.<sup>1</sup>; TEIXEIRA, Jane Maria<sup>1</sup>; LUND, Rafael Guerra<sup>2</sup>; NASCENTE, Patrícia da Silva<sup>3</sup>; DEL PINO, Francisco Augusto Burkert<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup> Acadêmicas do Curso de Odontologia - Laboratório de Microbiologia Oral – UFPEL/RS

<sup>2</sup> Programa de Pós-graduação em Odontologia – Área de concentração em Dentística – UFPEL/RS

<sup>3</sup> Pós-doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Veterinária – UFPEL/RS  
PPGO/UFPEL – Gonçalves Chaves, 457/504 – CEP 96015-560. rafael.lund@gmail.com

## **1. INTRODUÇÃO**

Usuários de plantas medicinais de todo o mundo, mantêm a prática do consumo de fitoterápicos, tornando válidas informações terapêuticas que foram sendo acumuladas durante séculos. De maneira indireta, este tipo de cultura medicinal desperta o interesse de pesquisadores em estudos envolvendo áreas multidisciplinares que juntas enriquecem os conhecimentos sobre a inesgotável fonte da medicina natural (Maciel et al., 2002).

A espécie *Arctium lappa* L., conhecida popularmente como “bardana” entre outros nomes é uma planta herbácea, nativa da Europa, pertencente à família Asteraceae, que se caracteriza por apresentar folhas grandes e flores arroxeadas (Holetz et al., 2002).

Diversos estudos têm sido conduzidos para avaliar o efeito de extratos desta espécie sobre microrganismos patogênicos. Algumas pesquisas têm evidenciado atividades variadas, tais como: antibacteriana e antifúngica (Tesk & Trentini 1991), ação anti-oxidante (Maruta, Kawabata & Niki, 1995) e efeito anti-agregação plaquetária (Iwakami & Ebizuka., 1992). De acordo com Teske & Trentini (1991), tanto na raiz quanto nas folhas da planta são encontradas várias substâncias com potencial terapêutico, como: óleos essenciais, taninos,

polifenóis, composto antibiótico semelhante a penicilina, vitaminas B e C, cálcio, fósforo e ferro. Outros estudos têm demonstrado efeito hepatoprotetor quando do uso crônico de etanol e também contra carcinógenos, sendo estes efeitos devidos provavelmente aos componentes lignanas, que apresentam atividade antioxidante (Morita et al., 1984; Lin et al., 1996).

As infecções por *Candida* consistem atualmente num problema de Saúde Pública. Isto se deve aos avanços tecnológicos na medicina, ao aumento de casos da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) e de hospedeiros imunodeprimidos de modo geral, bem como ao tratamento prolongado com antibacterianos o que contribui para o desequilíbrio da microbiota.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito antimicrobiano do extrato aquoso das folhas da *A. lappa*, por meio da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM) sobre diferentes cepas de espécies do gênero *Candida*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

As folhas de *Arctium lappa* foram colhidas da cidade de Pelotas, sendo acondicionadas em uma sala de desumidificação (24°C), por 45 dias para secagem. Após esse período, as folhas secas foram trituradas em moinho.

Para o preparo do extrato, foram utilizadas 20g de pó seco das folhas para 1L de água destilada, aquecida a 100°C, permanecendo em infusão por 24h. A solução obtida foi submetida à filtração à vácuo e o sobrenadante foi considerado extrato aquoso de *Arctium lappa*. Depois disso, este extrato foi esterilizado em filtro microbiológico com membrana Milipore® de 0,22µm de porosidade.

Para o teste foram utilizadas diferentes cepas de isolados clínicos de *C. albicans* (4), *C. tropicalis* (3), *C. glabrata* (1), *C. stellatoidea* (1), *C. dublinensis* (1) e *C. kruzei* (1) que se encontravam armazenadas no Laboratório de Microbiologia Oral (FO/UFPEL). Inicialmente, as cepas foram ativadas em meio agar Sabouraud dextrose e incubadas por 24h a 36°C. Para preparo do inóculo fúngico, as colônias foram suspensas em 5mL de solução salina estéril e ajustadas visualmente à escala 0,5 de McFarland.

Os isolados foram avaliados quanto à suscetibilidade frente ao extrato aquoso de *Arctium lappa*, através da técnica de microdiluição em caldo descrita no documento do NCCLS-M-27A2, adaptada para um fitofármaco, utilizando o meio de cultivo Sabouraud líquido (NCCLS/CLSI, 2005). O inóculo fúngico assim como as concentrações do extrato aquoso foram distribuídas em microplacas de 96 cavidades, as quais foram incubadas por 48 horas a 36°C. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) correspondeu a menor concentração do extrato que foi capaz de produzir proeminente inibição do crescimento fúngico, sendo a leitura realizada após 48 horas de incubação. Depois disso, efetuou-se a aplicação de 30µl de solução 0,2% do corante resazurina. Passando 3h, foi realizada a leitura visual das microplacas. As concentrações do extrato testadas variaram de 0,09 a 25mg/mL. O meio sintético utilizado foi o RPMI 1640 tamponado em MOPS.

A concentração fungicida mínima (CFM) foi determinada a partir dos resultados obtidos de CIM. Uma alíquota de 50µl das cavidades que apresentaram inibição de crescimento das leveduras foi semeada em placas e incubada a 36°C por 24h. A CFM foi considerada como a menor concentração do extrato que não apresentou crescimento fúngico. Todos os testes foram realizados em duplicata.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato apresentou Concentração Inibitória Mínima (CIM) de 25mg/mL sobre a linhagem 23600 de *C. tropicalis* e de 12,5 mg/mL sobre as linhagens *C. albicans* 04A; *C. tropicalis* 23651; *C. glabrata* 45ME; *C. stellatoidea* 44ME, *C. dublinensis* 37ME e *C. Krusei* 96A . Porém, o extrato não inibiu o crescimento da linhagem 23615 de *C. tropicalis* e das linhagens 26609B e 23574 de *C. albicans*.

Isolados	CIM (µL/mL) (%)	CFM (µL/mL) (%)
<i>C. albicans</i> (26609B)	-	-
<i>C. albicans</i> (23574)	-	-
<i>C. albicans</i> (04A)	12,5	-
<i>C. albicans</i> (ATCC)	12,5	-
<i>C. tropicalis</i> (23615)	-	-
<i>C. tropicalis</i> (23600)	25,0	-
<i>C. tropicalis</i> (23651)	12,5	-
<i>C. glabrata</i> (45ME)	12,5	-
<i>C. stelatoidea</i> (44ME)	12,5	-
<i>C. dublinensis</i> (37ME)	12,5	-
<i>C. Krusei</i> (ATCC 34135)	12,5	12,5

CIM: Concentração Inibitória Mínima / CFM: Concentração Fungicida Mínima  
 (-) : Sem Efeito

Estes resultados indicam provável existência de variável suscetibilidade entre as diferentes linhagens de uma mesma espécie de *Candida*, o que possibilita a obtenção de diferentes valores de CIM (Maffei, 1996; Pinto, 2003). Com relação à atividade fungicida, o extrato apresentou CFM apenas sobre a linhagem *C. krusei* 96A, na concentração de 12,5 mg/mL. Para todas as demais linhagens e espécies de *Candida* o extrato não apresentou efeito fungicida. Estes resultados indicam que o extrato aquoso de *Arctium lappa* L. apresenta considerável efeito fungistático sobre estes microrganismos, porém sua atividade fungicida é nula para a maioria dos inóculos, nas diluições testadas neste experimento.

Alguns fatores ligados a planta, com certeza podem ter influenciado nos resultados do extrato nos testes de susceptibilidade. Dessa forma a altitude, as condições climáticas, o cultivo, as condições de secagem e estocagem entre

outras, influenciam na composição e qualidade de componentes ativos presentes nos vegetais.

Pereira et al. (2005) avaliaram a atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos brutos das folhas de *A. lappa* contra diversos microrganismos comuns na cavidade oral e infecções endodônticas, entre eles: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* e *Candida albicans*. Os ensaios de bioautografia revelaram substâncias antimicrobianas presentes no extrato da planta e os resultados demonstraram que os constituintes de *A. lappa* apresentam um grande potencial de inibição contra os microrganismos estudados.

#### 4. CONCLUSÕES

O extrato aquoso de *Arctium lappa* L. apresentou atividade antifúngica sobre todas as espécies de *Candida* testadas, porém o referido extrato evidencia comportamento diferenciado quando submetido a diferentes linhagens de uma mesma espécie.

#### 5. REFERÊNCIAS

- HOLETZ, F.B.; PESSINI, G.L.; SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G.; NAKAMURA, C.V.; DIAS, B.P.D. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 2002, 97, p. 1027-1031.
- IWAKAMI, S. W. W. J.; EBIZUKA, Y. Platelet activating factor antagonists contained in medical plants ligands and sesquiterpenes. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, 1992, 40, p. 196-197.
- LIN, C. C.; LU, J. M.; YANG, J. J.; CHUANG, S. C.; UJIE, T. Anti-inflammatory and radical scavenge effects of *Arctium lappa*. **The American Journal of Chinese Medicine**, 1996, 24, p.127-137.
- MACIEL, M. A. M.; PINTO, C. A.; VEIG, J. V. F. Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, 2002, 25(3), p. 429-438.
- MAFFEI, C. M. L. **Amostras de *C. albicans* isoladas de gestantes: fatores de virulência, sensibilidade a antifúngicos, tipagem fenotípica e genotípica**. São Paulo, 1996, 183p. Tese (Doutorado em Microbiologia), Universidade de São Paulo, 1996.
- MARUTA, Y.; KAWABATA, J.; NIKI, R. Antioxidative caffeoylquinic acid derivatives in the roots of burdock. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 1995, 4, p. 2592-2595.
- MORITA, K.; KODA, T.; NAMIKI, M. A desmutagenic factor isolated from burdock (*Arctium lappa* Lime). **Mutation Research**, 1984, 129, p. 25-31.
- NCCLS/CLSI. Método de Referência para testes de diluição em caldo para determinação da sensibilidade de leveduras à terapia antifúngica: Norma

aprovada – 2a edição. (ANVISA, ed.), Vol. 22, n. 15. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde, Brasil, 2005.

PEREIRA, J. V.; BERGAMO, D. C. B.; FRANÇA, S. C, PIETRO, R. C. L. R; SOUZA, Y. T. C. S. Antimicrobial Activity of *Arctium lappa*. Constituents Against Microorganism Commonly Found in Endodontic Infections. **Brazilian Dental Journal**, 2005, 16 (3), p.192-196.

PINTO, P. M. **Caracterização fenotípica e análise da variabilidade genética de espécies do gênero *Candida* isoladas de pacientes portadores ou não de doenças de base, MG.** 2003,148p.Tese (Doutorado em Microbiologia) ICB-UFMG. Belo Horizonte, 2003.

TESK, M.; TRENTINI, M. **Compêndio de Fitoterapia.** 2ed. Curitiba: Herbarium; 1991.