
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA ÓLEO ESSENCIAL DE *Baccharis dracunculifolia* DC. FRENTE À LEVEDURA DA ESPÉCIE *Candida albicans*

EVALUATION OF ANTIFUNGAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL OF *Baccharis dracunculifolia* DC. AGAINST THE YEAST OF THE SPECIES *Candida albicans*

OLIVEIRA¹, C. F.; BOBEK¹, V. B.; PIETRUCHINSKI², E.; CARDOZO², A. G. L.

1 - Doutoranda do Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR

2 - Docente das Faculdades Ponta Grossa, Departamento de Farmácia, Ponta Grossa-PR

Autor para correspondência: camila_freitasdeoliveira@hotmail.com

RESUMO:

A disponibilidade de antifúngicos atualmente utilizados na clínica é relativamente pequena, sendo muitas vezes ineficiente e com toxicidade elevada, devido a isso é extremamente importante pesquisa de novos antimicrobianos. A *Candida albicans* é uma levedura que está presente normalmente na microbiota humana. No entanto, quando a imunidade baixa ou após o uso de certos medicamentos, ela pode-se tornar patogênica e causar infecções ao hospedeiro. Diante deste contexto, o presente trabalho visou avaliar "in vitro" o óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* frente à cepa da espécie *Candida albicans*. O óleo foi extraído das folhas secas de *B. dracunculifolia* através do método de hidrodestilação, em aparelho de Clevenger, durante 7 horas, e apresentou rendimento de 0,5%. O ensaio antifúngico foi realizado através do teste de difusão em disco e então avaliado em diferentes concentrações variando de 0,29 a 10 mg. O óleo apresentou atividade antifúngica em uma Concentração Inibitória Mínima de 10 mg. Pode-se concluir que o óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* possui boa atividade antifúngica, o que pode auxiliar no desenvolvimento de novos fármacos contra leveduras da espécie *Candida albicans*.

Palavras-chaves: *Baccharis dracunculifolia*, óleo essencial, ação antifúngica, *Candida albicans*, concentração inibitória mínima.

ABSTRACT:

The availability of antifungal agents currently used in the clinic is relatively small, often inefficient and high toxicity due to this is extremely important to research new antimicrobial. *Candida albicans* is a yeast that occurs naturally in the human microbiota. However, when low immunity or after the use of certain medications, it may become pathogenic and cause infections in the host. In this context, this study aimed to evaluate "in vitro" the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* against the strain of the species *Candida albicans*. The oil was extracted from the dried leaves of *Baccharis dracunculifolia* by hydrodistillation method in Clevenger apparatus for 7 hours and had a yield of 0.5%. The antifungal assay was performed using the disk diffusion test and then tested at different concentrations ranging from 0.29 to 10 mg. The oil showed antifungal activity in a minimum inhibitory concentration of 10 mg. It can be concluded that the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* has good antifungal activity, which can assist in the development of new drugs against yeast of the species *Candida albicans*.

Key words: *Baccharis dracunculifolia*, essential oil, antifungal, *Candida albicans*, minimum inhibitory concentration.

1. INTRODUÇÃO

A espécie *Baccharis dracunculifolia* pertence à família Asteraceae. É um arbusto com 2-3 metros de altura, possui ramos pilosos, com folhas lanceoladas, uninérveas que possuem 1-2cm de comprimento e 3-4 mm de largura (TAKEDA, FARAGO, 2001; BUDEL et al., 2004).

É uma espécie nativa da América do Sul, encontrada principalmente na região Sul do Brasil onde é conhecida popularmente como vassourinha, alecrim do campo, alecrim de vassoura, e erva-de-são-joão-maria. Também pode ser encontrada em campos secos e locais alterados (TAKEDA, FARAGO, 2001; GOMES, FERNANDES 2002; PANIS, 2008; PINTO et al., 2006).

Na medicina popular, *Baccharis dracunculifolia*, é frequentemente utilizada na forma de infusão das folhas, para problemas hepáticos, disfunção estomacal, anti-inflamatório e os ramos em decocto como antifebril (FENNER et al., 2006; RIGOTTI, 2007). Rigotti (2007) cita ainda vários efeitos benéficos dessa espécie vegetal como potencial efeito anti-mutagênico, atividade anti-leucêmica, atividade anti-cáries, atividade tripanomicida e também no tratamento de úlcera gástrica.

Os componentes majoritários encontrados no óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* são os sesquiterpenos nerolidol e espatulenol. O nerolidol está presente em óleos essenciais de diversas plantas e possui diversas atividades farmacológicas como a inibição do *Plasmodium falciparum* e da *Leishmania*. Na indústria de perfumes é de grande importância por ser um fixador natural de fragrância (DUARTE, 2006).

A *Candida* é uma levedura comensal aos humanos, está amplamente presente na flora, fauna no solo e na água, porém paciente com diabetes, com o sistema imunológico deprimido, que utilizam antibiótico de amplo espectro por tempo prolongado, corticóide ou anticoncepcional, estão predispostos a adquirir infecções causadas por essa levedura (TRABULSI; ALKTERTHUM, 2005; DUARTE, 2006).

A candidose pode ser uma infecção primária ou secundária, é causada por fungos do gênero *Candida*. Existem mais de 200 espécies de *Candida*, e a mais comum é a *Candida albicans*, mas outras espécies como *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida kefyr*, *Candida guilliermodii* e *Candida lusitanae* também estão sendo identificadas como causadores de infecções fúngicas (TRABULSI, ALKTERTHUM, 2005; TORTORA, FUNKE, CASE, 2007).

São microrganismos aeróbicos, mas podem crescer em anaerobiose e são Gram positivos. Em meios de cultura sólidos, possui colônia opaca, de cor creme e pastosa com 4-8 mm de diâmetro. Esse microrganismo causa infecções que afetam a mucosa da boca, vagina, esôfago, árvore brônquica, boca e unhas. (MURRAY et al., 2002; NETO, 2004).

Esse fungo além de acometer pele e anexos, a mucosa e a semimucosa, pode disseminar e ocasionar lesões em diversos órgãos, isso depende diretamente do sistema imunológico do paciente. Mais de 60% das infecções causadas por *Candida* são pelo gênero *Candida albicans* (NEVES, 2008).

No mercado há diversas drogas disponíveis, mas sua utilização é limitada devido a resistência das cepas, efeitos adversos e alto custo, sendo de extrema importância o desenvolvimento de novos medicamentos, com efeitos adversos menores e com maior espectro de ação (NEVES, 2008). Devido a essa alta resistência dos antimicrobianos o estudo da atividade antifúngicas de *Baccharis dracunculifolia* contra *Candida albicans* se justifica.

2. MÉTODOS

2.1 Material botânico

As partes aéreas (folhas) de *Baccharis dracunculifolia* foram coletadas no mês de abril na cidade de Ponta Grossa, Paraná, nas dependências da Faculdade Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais, situado nas coordenadas 25°05'10,79" SUL e 50°05'19,48" OESTE. O material foi identificado e depositado no Herbário do Museu Botânico de Curitiba, sob nº 338991.

Após a coleta do material vegetal efetuou-se a secagem em temperatura ambiente por 7 dias. Posteriormente as folhas foram armazenadas em recipiente hermeticamente fechado, em temperatura ambiente e ao abrigo de luz.

2.2 Extração do óleo essencial

A extração do óleo essencial foi realizada por meio da técnica de hidrodestilação, utilizando o aparelho de Clevenger, por um período de sete horas. Decorrido o tempo da extração, foi realizada a leitura do volume do óleo essencial diretamente na escala volumétrica do tubo separador do aparelho de Clevenger e, posteriormente foi calculo o seu rendimento pela equação $T\%(v/p) = \text{volume da essência (mL)} \times 30(g)/\text{quantidade do vegetal em gramas}$.

O óleo resultante foi coletado e acondicionado em frasco de vidro âmbar sendo armazenado sob refrigeração até o momento do uso.

2.3 Ensaios microbiológicos

Foi selecionada para o estudo, uma cepa padrão de *Candida albicans* (ATCC 10231) sendo adquirida da Newprov® Produtos para Laboratório Ltda. e mantidas armazenadas conforme orientação do fabricante.

O meio utilizado nos ensaios biológicos foi o ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol (Newprov® Produtos para Laboratório Ltda.).

A levedura de *Candida albicans* foi ativada da seguinte maneira: utilizando uma pinça flambada e resfriada, removeu assepticamente um disco contendo *Candida albicans* do frasco e colocou em um tubo contendo 3 mL de caldo Brain Heart Infusion (BHI). Incubou-se o caldo BHI a 36°C até turvação visível (2 - 3 horas) e com auxílio de uma alça calibrada de 100 microlitros, inoculou uma placa de ágar sangue por esgotamento e foi levada a estufa a 36°C por 24 horas.

A ação antifúngica do óleo essencial de vassourinha foi determinada através da difusão em ágar. Após o crescimento da *Candida albicans* em ágar sangue, foi realizado uma suspensão com salina, onde uma quantidade de candida foi retirada do ágar sangue com o auxílio de uma alça calibrada e colocado em salina estéril, essa suspensão foi padronizada, para isso utilizou o espectrofotômetro (modelo Thermo Plate Analyzer Basic) no comprimento de onda de 530 nanômetros e obteve uma absorbância 0,12 - 0,17 o que corresponde a 0,5 na escala de McFarland conforme trabalho de Neves (2008).

Após a obtenção dessa suspensão, com o auxílio de um swab, foi semeado sobre a placa de ágar Mueller Hinton em triplicata. As placas foram levadas a estufa por 10 minutos para a secagem. Enquanto decorria a secagem da placa, foi realizado diluições do óleo essencial utilizando o dimetilsulfóxido (DMSO) diluído em água com concentração de 1% de dimetilsulfóxido conforme tabela 1. Para a homogeneização do óleo essencial com a solução de água foi utilizado o aparelho de Vortex modelo QL – 901.

TABELA 1: Diluição e concentração do óleo essencial

Disco	Óleo essencial (μ)	H2O + DMSO (μ)	μl colocados no disco	Concentração final de óleo essencial (mg)
1	10		10	10
2	5		5	5
3	5	5	5	2,5
4	5	10	5	1,6
5	5	25	5	0,8
6	5	45	5	0,5
7	5	60	5	0,38
8	5	80	5	0,29

Em seguida os discos de papel de filtro devidamente esterilizados foram colocados com uma pinça flambada nas placas e então com o auxílio da micropipeta foram impregnados o óleo essencial nestes discos nas diferentes concentrações.

Como controle positivo foi utilizado o antifúngico fluconazol 150 (diluído em 1 ml da solução de água com DMSO 1%). Para o controle de crescimento da levedura (viabilidade da cepa) foi utilizado 10 µL da solução de água com DMSO 1%. A amostra padrão foi identificada no antifungigrama pela letra F e a amostra controle pela letra B.

As placas foram então incubadas na estufa em temperatura de 37°C por 24h. Após a incubação realizou-se a medição dos halos para saber a concentração mínima inibitória do crescimento do fungo, considerando sensíveis aqueles halos que possuíam diâmetro maior que 10 mm (QUEIROZ, 1998).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O rendimento do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* foi de 0,5%, no trabalho de Agostini (2005), onde foi avaliado a extração de óleo essencial do gênero *Baccharis* L, o maior rendimento do gênero foi de 0,5%, demonstrando que a concentração extraída no trabalho atual foi a esperada.

O óleo essencial teve atividade antifúngica contra *Candida* na primeira etapa do antifungigrama na concentração de 10 mg (TABELA 2).

Tabela 2 - Demonstração da atividade antifúngica

Concentração do óleo essencial (µ)	Halo de inibição	<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)
10	>10	Sensível
9	<10	Resistente
8	<10	Resistente
7	<10	Resistente
6	<10	Resistente
5	<10	Resistente
2,5	<10	Resistente
1,6	<10	Resistente
0,8	<10	Resistente
0,5	<10	Resistente
0,38	<10	Resistente
0,29	<10	Resistente

A atividade antifúngica do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC. da região dos Campos Gerais foi menor que a atividade relatada no trabalho de Leal et al., (2009), em que concentração inibitória constatada foi de 0,4 mg em algumas cepas de *Candida*. Em 90% das cepas estudadas por ele a concentração inibitória mínima citada foi de 6,0 mg. O óleo essencial pesquisado neste trabalho pode ter composição diferente do óleo estudado no artigo de Leal et al, (2009) sendo uma das justificativas da concentração inibitória mínima utilizada para a *Candida* ser maior que a usada por este autor.

Essa composição de óleo essencial pode ser diferente devido ao local de coleta, uma vez que o trabalho de Leal et al., (2009) foi realizado na região Sudeste. A diferença de solo, clima, tipo de cultivo, tempo de exposição ao sol e vento podem influenciar na concentração e na composição dos óleos essenciais, a época da coleta também pode ser uma das causas da atividade antifúngica ser diferente (SIMÕES; SPITZER, 2004).

Outro motivo da diferença da atividade contra *Candida* pode ser a sensibilidade do fungo, uma vez que alguns fungos são mais susceptíveis que outros a determinados agentes antifúngicos.

4. CONCLUSÃO

Neste trabalho realizou-se a análise antifúngica do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC. da região dos Campos Gerais – Ponta Grossa- PR.

A concentração de óleo essencial obtido através da técnica de hidrodestilação por cleverger foi a esperada, tendo um rendimento de 0,5%.

A atividade antifúngica demonstrada pelo óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* ocorreu na concentração de 10 mg. A comprovação da atividade antifúngica da *Baccharis dracunculifolia* da região dos Campos Gerais demonstrou que ela pode ser utilizada futuramente na composição de um novo fármaco como princípio ativo, porém torna-se necessário a realização de testes *in vivo*, bem como verificar a sua toxicidade.

5. REFERÊNCIAS

AGOSTINI, F, SANTOS, A. C. A, ROSSATO, M, PANSELA, M. R, ZATTERA, F, WASUM, R, SERAFINI, L. A. Estudo do óleo essencial de algumas espécies do gênero *Baccharis* (Asteraceae) do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 13, n.3, p. 215 – 220, 2005.

BUDEL, J. M, DUARTE, M, SANTOS, C. A. M, FARAGO, P. V. Morfoanatomia foliar e caulinar de *Baccharis dracunculifolia* DC., Asteraceae. **Acta Farmacêutica Bonaerense**. v. 23, n. 4, p. 477-483, 2004.

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Revista Multiciência.** v. 7, p.1-16, 2006.

FENNER, R, BETTI, A. H, MENTZ, L. A, RATES, S. M. K. Plantas utilizadas na medicina popular com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.** v. 42, n. 3, p. 369 – 301, 2006.

GOMES, V, FERNANDES, G. W. Germinação de aquênios de *Baccharis dracunculifolia* DC.(Asteraceae). **Acta Botânica Brasilica.** v. 16, n. 4, 2002.

LEAL, F. M, PEREIRA, C. A, COSTA, A. C. B. P, JUNQUEIRA, J. C, JORGE, A. O. C. Potencial antifúngico do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia*, atividade enzimática e sensibilidade a Anfotericina B e Fluconazol por cepas clínicas de *Cândida* spp, **XXI Congresso de Iniciação Científica da UNESP**, São José do Rio Preto, 2009.

MURRAY, P. R, ROSENTHAL, K. S, PFALLER, M. A, KOBAYASHI, G. S. **Microbiologia Médica.** 4ª Ed. p. 626 – 629, Rio de Janeiro, Guanabara, 2002.

NETO, P. V. Ação antifúngica de plantas medicinais e da própolis frente a leveduras do gênero *Candida*, isoladas da cavidade bucal. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2004.

NEVES, M. S. Avaliação da atividade antifúngica *in vitro* do veneno das serpentes Amazônicas *Bothosps atrox* (Linnaeus, 1758) e *Crotalus durissus ruruima* (Hoge, 1965). Dissertação Pós-Graduação, Manaus, 2008.

OLIVEIRA, R. D. R, MAFFEI, C. M. L, MARTINEZ, R. Infecção urinária hospitalar por leveduras do gênero *cândida*. **Revista Associação Medica Brasileira.** v. 47, n. 3, p. 231-235, 2001.

PANIS, C. Plantas do gênero *Baccharis*, uso popular X comprovação científica. **Informativo Profissional do Conselho de Farmácia**, v. 20, Brasília 2008.

PINTO, D. C, SANTOS, L. C, ALVES, S. D, LIMA, M. C. H. P, KAPLAN, M. A. C. Óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC de diferentes populações, **Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais/NPPN**, Universidade Estadual do Rio de Janeiro, 2006.

QUEIROZ, M. L. F. **Atividade antifúngica in vitro de plantas medicinais frente a leveduras do gênero *Candida* isoladas da cavidade bucal.** 1998, 98f. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

RIGOTTI, M. Constituintes químicos e atividade farmacológica de *Baccharis dracunculifolia* DC. **A Cura Pelas Plantas**. p. 25-28, 2007.

SIMÕES, C. M. O, SPITZER, V. **Óleos Voláteis In Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5^a. ed. p. 467-468, Porto Alegre/Florianópolis: UFGS;UFSC, 2004.

TAKEDA, I. J. M, FARAGO, P. V. **Vegetação do Parque Estadual de Vila Velha- Guia de Campo**. Ponta Grossa: Serzegrafi. p. 90, 2001.

TORTORA, G. J, FUNKE, B. R, CASE, C. L. **Microbiologia**, 8^a Ed, p. 336-344, São Paulo: ARTEMED, 2007

TRABULSI, L. R, AKTERTHUM, F. **Microbiologia Revisada e Atualizada**, 4^a ed, p. 451-500, São Paulo: ATENEU, 2005.