

# **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATO ETANÓLICO DE *Plantago australis* Lam FRENTE À *Candida albicans***

**LUZ, Bruna Seibert<sup>1</sup>  
WEBER, Laís Dayane<sup>2</sup>  
GALVÃO, Patricia<sup>3</sup>**

## **RESUMO**

A *Candida albicans* é um fungo natural da microbiota humana, encontrado nas mucosas, principalmente nas regiões genitais e orais. É fungo oportunista, portanto, instalando-se quando o organismo está debilitado, fornecendo um ambiente propício para a proliferação do fungo, sendo assim, a candidíase. Um possível fitoterápico para auxiliar no tratamento da candidíase é a *Plantago australis* L., uma planta pertencente à família das Plantaginaceae e popularmente conhecida como Tansagem, esta é facilmente encontrada em jardins. O gênero *Plantago* tem propriedades antimicrobianas, anti-inflamatória, cicatrizantes e também contra dores de estômago. O objetivo deste trabalho foi verificar a influência da *Plantago australis* L. (tansagem) sobre a ação antimicrobiana da candidíase. Para isso foram utilizadas as folhas secas da planta, sendo 80g da tansagem e 800 ml de álcool 99% para realização do extrato etanólico, juntamente com o caldo dobrado de Muller Hinton Broth, em seguida foi inserido o fungo *Candida albicans*. Obteve-se um resultado positivo do extrato etanólico da planta *Plantago australis* L. frente à *Candida albicans*, concluindo-se que essa planta é funcional como fitoterápico e pode ser utilizada para a candidíase.

**PALAVRAS-CHAVE:** Tansagem, fitoterápico, candidíase.

## **EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY AT ETHANOLIC EXTRACT IN *Plantago australis* Lam. FRONT *Candida albicans***

## **ABSTRACT**

The *Candida albicans* is a natural fungus of the human microbiota, primarily found in the genital and oral mucosal regions. It is an opportunistic fungus, the candidiasis develops when the organism is weakened providing an ideal environment for the fungus proliferation. A possible herbal remedy to assist in the treatment of candidiasis is *Plantago australis* L., a plant belonging to the Plantaginaceae family and popularly also known as Tansagem. The genus *Plantago* has antimicrobial properties, aiding in the treatment against throat infection and anti-inflammatory action, as well as healing properties, and against stomachache. The objective of this study was to verify the influence of *Plantago australis* L. (tansagem) on the antimicrobial action of candidiasis. For this purpose dry leaves of the plant were used, 80g of the tansagem and 800ml of alcohol 99% to make the ethanolic extract, together with the Muller Hinton Broth folded stock, after which the fungus *Candida albicans* was inserted. A positive result of the ethanolic extract of the plant *Plantago australis* L. against *Candida albicans* was obtained, concluding that this plant is functional as phytotherapeutic and can be used against candidiasis.

**Keywords:** Tansagem, herbal remedy, candidiasis.

---

<sup>1</sup>Graduanda em Ciências Biológicas – Bacharel do Centro Universitário FAG, bruhseibert@gmail.com.

<sup>2</sup>Orientadora Mestre em Conservação e Manejo de Recurso Natural e docente no Centro Universitário FAG, layweber@gmail.com.

<sup>3</sup>Coorientadora Especialista em Docência no Ensino Superior no Centro Universitário FAG, patriciaglv@fag.edu.br.

## INTRODUÇÃO

A candidíase é uma infecção gerada por leveduras do gênero *Candida*. Este fungo está presente na microbiota natural do corpo humano. Por se tratar de um fungo oportunista, assim que o corpo fica debilitado, ocorre um desequilíbrio na microbiota natural, fornecendo um ambiente propício à proliferação do mesmo ocasionando a candidíase (BARBEADO e SGARBI, 2010). A quebra de nossa barreira natural pode ser ocasionada por uma diminuição da imunidade, causada, por exemplo, por diabetes tipo I, o uso de antibióticos e distúrbios hormonais, entre outros possíveis fatores (FOCACCIA, 2006).

Estima-se que 75% das mulheres que apresentam ou apresentaram os sintomas da candidíase em alguma fase de sua vida, podem ter realizado terapias frequentes com antibióticos, uso contínuo de corticosteroides, possuir diabetes mielites descompensado, imunossupressão, uma atividade sexual mais ativa com diferentes parceiros e serem portadora de HIV, entretanto, é importante ressaltar que a exposição aos riscos acima citados são causas do desenvolvimento da candidíase (FREITAS *et al.*, 2011).

Estudos realizados em 1973 no Reino Unido relatam que 84% dos casos clínicos são de *Candida albicans*. Em 1998 a Universidade de Washington encontrou casos de *Candida sp* em 24% das mulheres. Na Inglaterra, estimou-se um acréscimo de 28% para 37% nos casos entre 1971 e 1981, nas clínicas de DST7 (SPINILLO *et al.*, 1999, *apud* ROSA; RAMUEL, 2004).

No Brasil em 1996 foi realizado um estudo transversal com 72 mulheres que foram até o Serviço de Planejamento Familiar do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, 25% tiveram o resultado positivo para candidíase. Em outro estudo de 1998-1999, 205 mulheres atendidas nas clínicas de Ginecologia e Obstetrícia da Universidade do Espírito Santo, 25% obtiveram a candidíase assintomáticas e 60% com a presença de sintomas (RIBEIRO *et al.*, 2001, *apud* ROSA; RAMUEL, 2004).

Os sintomas mais comuns de candidíase são orofaríngea caracterizada por placas esbranquiçadas, parecido com leite coalhado, sobre a língua e a mucosa bucal, podendo ser também lesões avermelhadas e fissuras no canto da boca, podendo não apresentar inflamações e dor. Já a candidíase vaginal é caracterizada por corrimento esbranquiçado, prurido e edema nas regiões vaginal e bucal, podendo ocorrer variação (FOCACCIA, 2006).

Existem possíveis tratamentos para amenizar os sintomas e também para o tratamento da candidíase, como o uso de pomadas, comprimido via oral e comprimido via intravaginal, mas principalmente a utilização de fármacos (SHIOZAWA *et al.*, 2007).

A Organização Mundial de Saúde incentiva o uso e investe em estudos com plantas medicinais, de forma a apoiar essa prática e diminuir a abundância de drogas, ou seja, uso de fármacos em comércios. Nos últimos anos, foi observada uma melhor atenção ao tratamento natural para patógenos. Em pouco tempo houve uma mudança de interesses, onde se tem busca para maior utilização do uso de plantas medicinais e estudo de suas atividades no metabolismo (HARVEY, 2008; Silva *et al*, 2016).

O Brasil possui uma grande biodiversidade, sendo que abrange ética e a cultura, obtendo dessa forma, um precioso conhecimento tradicional pelo uso de plantas medicinais, e por esse motivo possui a potencialidade para investir em pesquisas e resultados tecnológicos para terapias apropriadas voltadas a fitoterápicos. Pensando nisso, o Ministério da Saúde criou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos que implementam a parte fundamental das políticas públicas de saúde, meio ambiente, desenvolvimento econômico e social, com isto trazer melhorias a qualidade de vida dos brasileiros (Ministério da Saúde, 2006).

Apesar do grande avanço na tecnologia para a medicina moderna no mundo, a OMS (Organização Mundial da Saúde) acredita que uma parte da população depende da medicina tradicional, estimando que 80% desta população faz a utilização de técnicas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde e 85% destes empregam as plantas ou a elaborações destas (Ministério da Saúde, 2006).

Segundo Souza e Lorenzi (2012), a Tansagem pertence à espécie *Plantago*, da família Plantaginaceae. Sua estrutura é descrita como ervas e arbustos, com folhagem oposta, e com as flores vistosas, sendo que algumas são de flores pequenas e pouco evidentes. O fruto de *Plantago* é em cápsula, no formato parecido com do trigo. No Brasil a espécie é conhecida como Tansagem, planta medicinal com mais de 10 espécies nativas e facilmente encontrada em jardins.

De acordo com Battisti e colaboradores (2013), a espécie *Plantago australis* tem propriedades antibióticas e anti-inflamatórias, atuando em infecções de garganta, cicatrização, bem como dores de estômago.

Os princípios ativos provindos de extratos vegetais podem ser encontrados em diferentes partes da planta, como folhas, casca, frutos, dentre outras, e sua atividade biológica apresenta-se como forma alternativa de controle de várias doenças, zoonoses e também atuam contra a resistência microbiana, não agredindo o meio ambiente, pois são meios naturais (WEBER, 2013).

Desta forma, este trabalho tem como objetivo verificar a atividade antimicrobiana de extrato vegetal etanólico e aquoso da *Plantago australis* (tansagem) sobre a *Candida albicans*.

## METODOLOGIA

A tansagem foi coletada em propriedade particular do bairro universitário no município de Cascavel-PR, nas coordenadas geográficas 24°59'6.14"S-53°27'16.48"O. Após sua coleta as folhas foram submetidas ao processo de secagem em temperatura ambiente e posteriormente ao processo de trituração manual, onde foram armazenadas em ambiente seco e arejadas até sua utilização.

Para a identificação da tansagem foi enviado uma exsicata (figura 1), ao laboratório de botânica da Universidade do Oeste do Paraná, afim de obter sua classificação correta, onde seu exemplar está depositado no Herbário da mesma instituição, sob o número de registro UNOP 8901 e corrido chave pela especialista e Curadora do Herbário Livia Godinho Temponi, com doutorado em Botânica pela USP, conforme seu curriculum lates.



FIGURA 1 – Exsicata Tansagem depositada no Herbário da Universi-

dade Estadual do Oeste do Paraná.

Para a elaboração dos extratos, foi utilizada a metodologia de Weber e colaboradores (2014), com algumas alterações adaptativas, a mesma está descrita a seguir.

Para o extrato vegetal aquoso foi utilizado 40g das folhas da planta através da trituração e adicionado 400 mL de água destilada estéril (10%). Em seguida o material foi deixado por um período de 24 horas, sobre agitação no SHAKER à temperatura ambiente, de aproximadamente 24°C. Após o período de agitação, foi filtrado utilizando-se de papel filtro, com porosidade inferior a 0,42 mm. Em seguida foi realizada uma nova filtração do extrato à vácuo com o auxílio de uma membrana filtrante com uma porosidade característica de 0,25 mm e o material extraído foi armazenado na geladeira do laboratório em um vidro estéril até a sua utilização.

Para a elaboração do extrato etanólico, utilizou-se o etanol 99%, para atuar como solvente do extrator. Em vidro estéril foi adicionado 40g das folhas e com um adicional de 400 mL do solvente (10%) e deixado sobre movimento no SHAKER por um período de 24 horas em temperatura ambiente, com aproximadamente 24°C. Após esse período a solução foi filtrada a vácuo em papel filtro estéril. O líquido obtido através da filtração passou por outro processo denominado de rotoevaporação, a fim de retirar o solvente e deixar apenas o extrato em 10%. Esse processo foi realizado no laboratório de biotecnologia da Unioeste, por meio do aparelho rotoevaporador TECMAL®, no período de 2 horas.

Para o crescimento de *Candida albicans* foi adicionado algumas cepas em 10 mL de caldo Nutriente e deixado na estufa por um período de 24 horas em 37°C. Após esse tempo, foi retirado a *Candida* do caldo e colocado em 10 mL salina 0,9% até se obter uma turvação correspondente a 1 na escala McFarland. Quando atingindo a turvação foi retirado 1 mL do caldo com a *Candida* e introduzido novamente em 10 mL de salina 10% para obter concentração de 0,5 em escala McFarland.

Pela metodologia apresentada por Weber e colaboradores (2014), foi realizado o procedimento de micro-diluição, com modificações, portanto, para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), foi utilizada a placa 96 poços para micro diluição, dessa forma acrescentando o caldo Muller Hinton Broth (MH) (concentração dupla) na quantidade de 200 µL. Na sequência foi colocado mais 200 µL de extrato na concentração de 10%, totalizando 50 mg/mL homogeneizado e realizado diluições sucessivas nos poços, dessa forma a cada diluição foi reduzida pela metade a concentração. Realizado esse procedimento foi acrescentado 10 µL do fungo em cada diluição.

Na placa foi realizado o controle positivo, onde se obtém 200 µL do caldo e 10 µL do fungo e o para a confirmação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e usado uma solução antifúngico a Nistatina, sendo 200 µL no caldo MH e acrescentando 10 µL do fungo.

Após esses procedimentos a placa ficou incubada por um período de 24 horas, submetida a uma temperatura de 37°C.

Para a possível determinação da Concentração Fúngica Mínima (CFM), foi utilizado como base à metodologia de Weber e colaboradores (2014), nos presentes poços onde não ocorreu uma turvação visível, foi efetuado uma retirada da alíquota de 10µL e inoculado em uma placa de petri com o ágar MH (concentração dupla) e incubando o material por um período de 24 horas sobre uma temperatura estimada de 37°C.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se pela CIM e da CBM, que o extrato aquoso de *Plantago australis* não apresentou atividade antimicrobiana frente à *Candida albicans*, nas diferentes concentrações testadas (tabela 1).

O extrato etanólico da *Plantago australis* mostrou-se como antifúngico frente à *Candida albicans* testado. Sua atividade antifúngica pode ser encontrada nas concentrações de 50mg/mL a 3,12 mg/mL e sua concentração inibitória mínima de 50mg/mL a 1,56 mg/mL (tabela 1).

Tabela 1 – Concentração inibitória mínima (CIM), Concentração Fúngica Mínima (CBM), e controle positivo e negativo dos extratos aquoso e etanólico de *Plantago australis* (tansagem), frente à *Candida albicans*.

| Fungo                   | CIM/CBM (mg/mL) |                   | CP | CN |
|-------------------------|-----------------|-------------------|----|----|
|                         | Extrato Aquoso  | Extrato Etanólico |    |    |
| <i>Candida albicans</i> | n.a/n.a         | 1,56/3,12         | -  | +  |

\*n.a: não houve atividade; CP: Controle Positivo; CN: Controle Negativo; (-): Não crescimento; (+): Crescimento

Giordani e colaboradores (2015) relatam que existem muitos fatores que podem impossibilitar a ação do extrato frente à candidíase, sendo que algumas plantas necessitam

concentrações mais altas e outras necessitam de concentrações mais baixas para assim inibir a *Candida albicans*. Assim destaca as famílias Asteraceae e Geraniaceae que ofereceram maior número de espécies plantas com atividade na candidíase. Podemos falar também de outros fatores que interferem nas atividades dos extratos vegetais, podendo ser eles o local e o período de coleta da planta (Melo *et al.*, 2012), tais fatores podem ser a causa do extrato aquoso não ter apresentado atividade antifúngica.

Com relação à atividade antifúngica do extrato etanólico pode ser justificado devido à presença de metabólitos secundários já relatados presentes no gênero da planta em estudo. Segundo o Ministério da Saúde e ANVISA (2014) o gênero *Plantago* apresenta alguns metabólitos secundários sendo eles os flavonóides, esteróis, taninos, carboidratos saponinas, alcaloides e triterpenos.

Podemos especificar algumas atividades dos metabólitos secundário no organismo, como os flavonóides que apresenta diverças propriedades funcionais, sendo elas: ação antiinflamatória, antioxidante, estrogênica, antitumoral, antiviral, antiespasmódica, aumento da resistência da parede de vasos sanguíneos, diminuição de riscos de doenças coronarianas e atividade alelopática e as saponinas atividade antiviral, citotóxica (antitumoral), espermicida, analgésica, expectorante, anti-hemorroida e anti-inflamatória (Navarro, 2005 *apud* Harbone; Willians, 2000).

O uso popular da *Plantago* é tradicionalmente utilizado para diversas enfermidades, sendo elas utilizando-se as folhas para feridas, picadas de insetos, resfriados, dor de dente, problemas na garganta, antisséptica, anti-inflamatórias, neutraliza os efeitos causados por animais peçonhentos ou venenosos (Ministério da Saúde e ANVISA 2014).

A parte interna das folhas é indicada popularmente para limpeza sanguínea, diarreia, hemorragias, câncer, estomatite, esplenite, pneumonia. As sementes são indicadas no tratamento de disenteria, febre, hemorroidas, sendo descrita também sua utilização em associação a outras plantas como emoliente em casos de tosse e dor de garganta. As raízes são utilizadas para tratamento de diabetes. Por fim, a planta inteira é aplicada para diversos tratamentos (Ministério da Saúde e ANVISA 2014).

Ventura e colaboradores, (2016) relatam que a tansagem também tem ação antimicrobiana onde permitiu maior aproveitamento de ação frente à *Staphylococcus aureus* por meio da extração de seus metabólitos.

Em experimento feito com bactérias transitórias na cavidade bucal, foram citadas e encontradas *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia liquefaciens*, *Proteus mirabilis* e *Staphylococcus epidermidis* e para seu controle foi aplicado o extrato de *Plantago*

sp onde proporcionou um índice de inibição total em torno de 13,5%, concluindo-se que o extrato teve atividade de um 60% das repetições, mostrando assim que apresentam características de provável controle no crescimento das bactérias bocais (Buffon et. al, 2001).

Não foi possível fazer a avaliação de comparação dos resultados obtidos pelo método de microdiluição em caldo dos extratos de *Plantago australis* L., já que ainda não existem artigos publicados demonstrando as CIMs dos extratos pelo método citado.

A presente pesquisa sugere que mais testes sejam realizados para comprovar a eficácia da *Plantago* frente à *Candida albicans*, de forma que verifique os componentes presentes no fungo da *Candida albicans* que está presente em bactérias citadas no texto.

## CONCLUSÃO

Conclui-se que o extrato aquoso não foi funcional na concentração total como antifúngico da *Candida albicans*, necessitando utilizar novas metodologias e de aplicação para novas avaliações. Para o extrato etanólico perceberam-se atividades antifúngicas frente à *Candida albicans*, indicado como possível ou promissor fitoterápico.

## REFERÊNCIAS

BARBEDO, L.S; SGARBI, D.B.G. Candidíase. **Jornal brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, Rio de Janeiro. v. 22, n. 1, p. 22-38, 2010.

BASTTISTI, C; GARLET, T.M.B; ESSI, L; HORBACH, R.K; ANDRADE, A; BACKE, M.R. **Revista Brasileira de Biociências**. v.11, n.3, p. 338-348, 2013.

BUFFON, M. C. M; LIMA, M. L. C; GLARDA, I; COGO, L. Avaliação da eficácia dos extratos de *Malva sylvestris*, *Calêndula officinalis*, *Plantago major* e *Curcuma zedoaria* no controle do crescimento das bactérias da placa dentária. Estudo “in vitro”. **Revista Visão Acadêmica**. v. 2, n. 1, p. 31-38, 2001.

FOCACCIA, R. **Tratado de infectologia**. 3ed, v.2. São Paulo, Rio de Janeiro, Ribeirão Preto, Belo Horizonte, Editora Atheneus, 2006, 2222 p.

FREITAS, F; MENKE. C. H; RIVOIRE, W. A; PASSOS, E. P. **Rotinas em ginecologia**. 6ª edição. São Paulo, Artmed Editora S.A, 2011,736 p.

GIORDANI, C.; SANTIN, R.; CLEFF, M.B. Levantamento de extratos vegetais com ação anti-Candida no período de 2005-2013. **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s. v. 17, n. 1, p. 175-185, 2015.

HARVEY, L.Natural products in drug discovery, Drug Discov. Today, 2008. SILVA, C.M.A; COSTA, B.M.S; SILVA, A.G; SOUZA, E.B; SILVA, M.V; CORREIA, M.T.S; SILVA, A.P.S; LIMA, L.V.M. Antimicrobial activity of several Brazilian medicinal plants against phytopathogenic bactéria. **African Journal of Microbiology Research**. v.10, n. 9EFAF0258262, p. 578–583, 2016.

MELO, M. S. F; ROCHA, C. Q; SANTOS, M. H; CHAVASCO, J. M; CHAVASCO, J. K. **Pesquisa de bioativos com atividade antimicrobiana nos extratos hidroetanólicos do fruto, folha e casca de caule do Zizyphus joazeiro Mart**. Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações, v. 10, n. 2, p. 43-51, 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica\\_nacional\\_fitoterapicos.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_fitoterapicos.pdf)>. Acesso em 16 de outubro 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE E ANVISA. **Monografia da espécie *Plantago major* L. (tanchagem)**. <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2014/novembro/25/Vers--o-cp-Plantago-major.pdf>> Acesso em 01 de novembro 2017

NAVARRO, D; F. Estudo Químico, Biológico e Farmacológico das espécies Allamanda Blanchetti e Allamanda Schottii Pohl para a obtenção de frações e moléculas Bioativas de Potencial Terapêutico, 2005. In: HARBONE, J. B. e WILLIANS, C. A. Review: Advances in flavonoids research since 1992. **Pyhochemistry**. v. 55, p. 481-504, 2000.

RIBEIRO, M.A; DIETZE, R; PAULA C.R; MATTA D.A; COLOMBO, A.L. Susceptibility profile of vaginal yeast isolates from Brazil. Mycopathologia 2001. In: Rosa, M.I; Rumel, D. Fatores Associados à Candidíase Vulvovaginal: Estudo Exploratório. **Revista Brasileira de Ginicologia e Obistetrícia**. v. 26, n. 1, p. 1-6, 2004.

SOUZA, V.C; LORENZI H. **Botânica Sistemática**. 3º edição. Nova Odessa, Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, 2012,768 páginas.

SHIOZAWA, P; CECI, D; FIGUEIREDO, M.A.P; SEKIGUCHI, L.T; BAGNOLI, F; LIMA, S.M.R.R.Tratamento da candidíase vaginal recorrente: revisão atualizada. **Arq. Med. Hosp. Fac. Cienc. Med. Santa Casa São Paulo**. v. 52, n. 2, p. 48-50, 2007.

SPINILLO A; CAPUZZO E; ACCIANNO S; DE SANTOLO A; ZARA F. Effect of antibiotic use on the prevalence of symptomatic vulvovaginal candidiasis. Am J Obstet

Gynecol 1999. In: Rosa, M.I; Rumel, D. Fatores Associados à Candidíase Vulvovaginal: Estudo Exploratório. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**. v. 26, n. 1, p. 1-6, 2004.

VENTURA, P. A. O; JESUS, J. P. O; NOGUEIRA, J. R. S; RIVEROS, A.C.G. Análise fitoquímica e avaliação da susceptibilidade antimicrobiana de diferentes tipos de extratos de *Plantago major* L. (Plantaginaceae). **Infarma Ciências Farmacêuticas**. v. 28. n. 1. p. 33-39, 2016

WEBER, L. D. **Composição química, atividade antimicrobiana e antioxidante de óleo essencial e diferentes extratos vegetais de *Prunus myrtifolia* (L.) Urb.** 56 f. Dissertação (Mestrado em Conservação e Manejo de Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2013.

WEBER, L. D.; PINTO, F. G. S.; SCUR, M. C.; SOUZA, J. G. L.; COSTA, W. F.; LEITE, C. W. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil and various plant extracts from *Prunus myrtifolia* (L.) Urb. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, p. 846-853, 2014.