

EXTRATO VEGETAL DE BOLDO-DA-TERRA, (*Plectranthus barbatus*) PARA CONTROLE DE CRESCIMENTO *IN VITRO* DE *Candida Albicans*.

LUIZ, Mayra Caroline¹

PAULUS, Cristiane²

RESUMO

O presente artigo tem como objetivo verificar se o extrato vegetal de boldo-da-terra (*Plectranthus barbatus*), possui propriedades antimicrobianas em culturas de fungos da espécie *Candida albicans*. O delineamento experimental utilizado inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e cinco repetições, tendo o tratamento 1 caracterizado como testemunha; o tratamento 2; 1% de extrato aquoso de boldo; o tratamento 3; 2% de extrato aquoso de boldo e tratamento 4; 4% de extrato aquoso de boldo, durante o período de 24 e 48 horas foram observados a inibição das unidades formadoras de colônias, e quantificadas com o auxílio do contador de colônias eletrônico, os resultados foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste Tukey a 5% de significância. O extrato aquoso de boldo-da-terra (*Plectranthus barbatus*), apresentou eficiência em relação à redução da formação das unidades de colônias de *Candida albicans*, podendo assegurar que a problemática proposta no artigo foi elucidada, colaborando com os estudos de extratos antimicrobianos.

PALAVRAS-CHAVES: Antimicrobiano, Plantas, Controle fúngico.

VEGETABLE EXTRACT FROM EARTH BOLDO, (*Plectranthus barbatus*) FOR IN VITRO
GROWTH CONTROL OF *Candida Albicans*.

ABSTRACT

This article aims to verify whether the plant extract of boldo-da-terra (*Plectranthus barbatus*), has antimicrobial properties in cultures of fungi of the species *Candida albicans*. The experimental design used was completely randomized, with four treatments and five repetitions, with treatment 1 characterized as a control; treatment 2, 1% aqueous bilberry extract; treatment 3, 2% aqueous bilberry extract and treatment 4, 4% aqueous bilberry extract, during the period of 24 and 48 hours, the inhibition of colony-forming units was observed, and quantified with the help of the colony counter the results were submitted to an analysis of variance (ANOVA) and compared by the Tukey test at 5% significance. The aqueous extract of boldo-da-terra (*Plectranthus barbatus*), showed efficiency in relation to the

¹ Acadêmica do curso de Ciências Biológicas, cursando 8º período no Centro Universitário Assis Gurgacz. E-mail: maycluiz01@gmail.com.

² Bióloga e Agrônoma, Mestre em Produção Vegetal, Docente do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário Assis Gurgacz. cristianepaulus@fag.edu.br.

reduction of the formation of the units of colonies of *Candida albicans*, being able to assure that the problematic proposed in the article was elucidated, collaborating with the studies of antimicrobial extracts.

KEYWORDS: Antimicrobial, Plants, Fungal Control.

INTRODUÇÃO

Candida albicans é um fungo trimórfico normalmente encontrado no trato gastrointestinal e geniturinário onde reside com equilíbrio a flora bacteriana do sistema imune do hospedeiro, se adaptando em diversos níveis de PH e temperaturas. Este fungo apresenta diversas morfologias sendo elas em formas de leveduras, pseudo-hifas e hifas, outra característica importante ressaltar é a capacidade de se criar um biofilme rico em glucano que a protege contra as defesas do hospedeiro (CARDOSO, 2013).

A candidíase oral e vaginal são as que mais acarretam danos à saúde, sendo que a candidíase oral se constitui no tipo mais comum e se manifesta através de placas brancas na mucosa oral, no que lhe concerne a candidíase vaginal tem como sintomas: corrimentos esbranquiçados, coceiras, podendo ocasionar feridas na região da vulva, esta doença quando não tratada adequadamente pode evoluir para doenças sistêmicas mais graves podendo atingir qualquer órgão e levar até mesmo ao óbito (BRASIL, 2004).

Com o avanço da pesquisa química, onde se estudam a atividade biológica das plantas em funções antimicrobianas, a atuação dos metabolismos secundários têm sido eficazes, e com o crescimento da resistência dos microrganismos, incentiva-se, a procura de produtos naturais, pois já se comprova a eficácia dos extratos e óleos essenciais em fungos, leveduras e bactérias, tendo em vista que a utilização de fitoterápicos é de uso milenar na sociedade (DUARTE, 2006).

Considerando as propriedades fitoterápicas da planta Boldo, assim como seu fácil acesso, se propôs uma análise mais aprofundada a respeito de seus benefícios no controle da Candidíase. Os Fungos de *Candida albicans*, causadores de doenças nos seres humanos e transmissíveis por contato de mucosas, secreções e partos (BRASIL 2004).

No Brasil, as primeiras pesquisas com plantas medicinais vieram com os portugueses, quando houve uma escassez de remédios na Europa e médicos naturalistas através de excursões chegaram ao Brasil e perceberam a importância dos remédios naturais criados pelos

indígenas brasileiros, começando assim uma extração de recursos naturais, sendo coletadas várias espécies de fauna e flora para uso medicinal e para exposições em museus na Europa (PINTO et al. 2002).

A partir do século XX foi regularizado uso de plantas fitoterápicas, passando a ter selos de qualidades e embalagens industriais, e assim sendo comercializada em farmácias e casa de produtos naturais, porém no Brasil ainda se tem o uso de plantas medicinais sem comprovação científica pela população que dispõe de recursos financeiros escassos. Segundo a Organização Mundial de Saúde, países com menor desenvolvimento dependem da utilização de plantas para o tratamento de doenças (VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

Segundo Cremones et al. (2013), a planta de *Plectranthus barbatus* foi trazida da Índia para o Brasil no período colonial, sendo uma espécie da família Lamiaceae e pode atingir um metro de altura, tendo como características folhas aveludadas suculentas de sabor amargo, e alto desempenho biossintetizantes de metabólitos secundários para combater atividades antimicrobianas.

Sua composição química farmacológica contém alcalóides pertencentes à classe dos benzoquinolínico ainda apresenta taninos, óleos essenciais e glicolipídios sendo o alcalóide boldina o componente principal. A capacidade antioxidante da boldina pode estar relacionada com a habilidade em sequestrar radicais hidroxila e peroxila através de um mecanismo de ação antioxidante (RUIZ et al. 2008).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi verificar se o extrato vegetal de boldo-da-terra (*Plectranthus barbatus*) possui propriedades fitoterápicas em culturas de fungos da espécie *Candida albicans*.

ENCAMINHAMENTO METODOLÓGICO

O experimento foi realizado no Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Assis Gurgacz, localizado no município de Cascavel-PR, durante o mês de setembro de 2020. Os extratos do vegetal foram produzidos partir das folhas de boldo-da-terra coletados de uma residência localizada no bairro Canadá, também localizado no município de Cascavel-PR.

Para a avaliação antifúngica, folhas frescas de *Plectranthus barbatus* (Boldo-da-terra) foram coletadas, maceradas e misturadas com água destilada, para a obtenção do extrato aquoso. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 5 repetições, sendo o tratamento 1; com a ausência do extrato aquoso caracterizado como

testemunha; o tratamento 2; 1% de extrato aquoso de boldo (2,5 g de folhas de boldo para 250 ml de água destilada); o tratamento 3; 2% de extrato aquoso de boldo (5g de folhas de boldo para 250 ml de água destilada) e tratamento 4; 4% de extrato aquoso de boldo (10g de folhas de boldo para 250 ml de água destilada). Os extratos aquosos foram utilizados para realização dos meios de culturas com BDA (Batata Dextrose Ágar), antes da semeadura as placas com meio de cultura foram deixadas em repouso até atingirem a temperatura ambiente.

A solução microbiana de *Candida albicans*, de procedência New Prov – Produtos para laboratório Ltda do lote 16153R, microorganismo padrão estabilizado, diluído 10^6 de acordo com a escala de MC Farland em caldo nutriente e deixado em crescimento por no mínimo 72 horas em forma de levedura, foi inoculada uniformemente na superfície do meio de cultura com auxílio de uma alça de platina esterilizada em câmara de fluxo laminar estéril. Todas as placas foram incubadas em estufa BOD a 37 graus, durante 24 e 48 horas (CORREA et al., 2020).

No final deste período observou-se de inibição do crescimento das unidades formadoras de colônias que foram quantificadas através do uso de um contador de colônias eletrônico este método utilizado e realizado a olho nu, que consiste em posicionar a placa de Ágar na bacia de sustentação e fazer a iluminação para a marcação dos números de colônias da placa sendo contada a quantidade de colônias em cm^2 para realizar a multiplicação pela área total da placa que é de 30 ($\text{cm} \times 30$) em seguida transformando a média aritmética em UFC/ml (SANTANA 2018).

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, com auxílio do programa estatístico SISVAR 5.6. (COSTA 2018).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a Tabela 1, pode-se verificar que a utilização de extrato aquoso de boldo-da-terra possui eficiência no processo de inibição de colônias fúngicas de *Candida Albicans*, sendo que todas as concentrações utilizadas obtiveram redução de colônias quando comparadas com o controle.

A variação da média dos tratamentos 2, 3 e 4 apresentou resultados próximos, outro elemento importante a se destacar encontra-se na média apresentada pelo extrato de 4% que

exibiu quantidades maiores de UFC em relação ao tratamento de 2% ainda que o percentual aplicado fosse consideravelmente maior.

Tabela 01-Média por tempo de tratamento do crescimento de colônias *Candida albicans*, mediante aplicação do Extrato vegetal de *Plectranthus barbatus*.

Tratamento	24 horas (UFC/mL)	48 horas (UFC/mL)
Controle	7,86×10 ⁴ b	8,58×10 ⁴ b
Extrato de boldo 1%	4,50×10 ⁴ a	5,46×10 ⁴ a
Extrato de boldo 2%	3,90×10 ⁴ a	4,02×10 ⁴ a
Extrato de boldo 4%	4,44×10 ⁴ a	4,74×10 ⁴ a
CV%	35,79	38,36

Fonte: Dados coletados através do SISVAR teste Tukey.

Nota: CV (%) Coeficiente de Variação.

Nota específica: *Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Percebe-se que houve um crescimento maior nas colônias de *Candida Albicans* no controle, quando comparadas com os demais tratamentos, sendo que no Controle apresentou uma média de $7,86 \times 10^4$ UFC/ml no período de 24 horas e média de $8,58 \times 10^4$ UFC/ml para o período de 48 horas, sendo a maior média exposta, com relação aos extratos vegetais de boldo à 1% ($4,50 \times 10^4$ UFC/ml para o período de 24 horas e média de $5,46 \times 10^4$ UFC/ml para o período de 48 horas), 2% ($3,90 \times 10^4$ UFC/ml para o período de 24 horas e $4,02 \times 10^4$ UFC/ml para o período de 48 horas), e por 4 % ($4,44$ UFC/ml para o período de 24 horas e média de $4,74 \times 10^4$ UFC/ml para o período de 48 horas).

Lima (2006), também efetivou experimentos por meio de óleos essenciais de *C. zeylanicum* e *P. Barbatus*, conseguindo resultados satisfatórios de minimização dos fungos *Candida albicans* tendo uma inibição de 58% das cepas ensaiadas com a diminuição dos diâmetros dos halos de crescimento das leveduras.

Estudos com extratos de Boldo do Chile apresentaram a eficiência em controle de fungos de *Candida albicans* sendo comprovada através da inibição dos halos de crescimento e tendo alto desempenho na inibição de outros exemplares de leveduras também como: *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* entre outras espécies (SANTOS et al. 2016).

Duarte (2006), realizou estudos onde extratos vegetais e óleos essenciais de 80 diferentes espécies utilizadas no Brasil foram analisados para controle de leveduras de

Candida spp. sendo que 11 das 80 plantas testadas apresentaram eficiência para controle de micro-organismo.

Santos (2014), também avaliou extratos hidroalcoólico de *Plectranthus ornatus* (Boldo-chinês), onde houve halos de inibição de 18 á 22 mm em bactérias Gram-positivas *Bacillus cereus*.

Extratos vegetais e óleos essenciais são eficientes nas atividades microbianas, com uma diversidade ampla de extratos vegetais dentre eles: estudos realizados com os extratos de Aroeira, Barbatimão e Erva baleeira que inibiram halos de crescimento, em ensaios sobre cepas fúngicas (PINHO et al. 2012).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato aquoso de Boldo-da-terra (*Plectranthus barbatus*) apresentou diferenças em relação aos tratamentos tendo uma redução da formação das unidades de colônias de *Candida albicans*, comparado ao tratamento controle, podendo assegurar que a problemática proposta no artigo foi elucidada, colaborando com os estudos de extratos antimicrobianos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Doenças infecciosas e parasitárias**: guia de bolso. 4. Ed. ampl. 332p. Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

CARDOSO, T.S. **Papel do ATP na infecção de Macrófagos por *Candida albicans***. Dissertação (Mestrado), Curso de Bioquímica, Coimbra: Universidade de Coimbra, 2013, 42p.

CREMONEZ, F. E. CREMONEZ P.A.; CAMARGO M.P. de; FEIDEN A. Principais plantas com potencial alelopático encontrado no sistema agrícola brasileiro. **Acta Iguazu**. Cascavel, v. 2, suplemento p. 70 - 88, 2013.

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. São Paulo: Universidade Estadual de Campinas. **Revista MultiCiência**, n. 7, 2006.

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 *Cândida*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Paraíba: Universidade Federal da Paraíba, 16: 197 - 201. 2006.

PINHO, L. et al. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólico das folhas de Alecrim-Pimenta, Aroeira, Barbatimão, Erva-baleeira e do farelo da casca de Pequi. **Revista Ciência Rural**. Rio Grande do Sul, V.42, n.2, p.326 - 331, 2012.

PINTO, A C. et al. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química nova**. São Paulo, v. 25, supl.1, p.45 - 61, 2002.

REZENDE, Helena Aparecida. COCCO, Maria Inês Monteiro. Utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Revista da escola de enfermagem da USP**. São Paulo: Universidade de São Paulo v.36 n.3 p.282 - 8, 2002.

RUIZ, Ana Lúcia T.G. et al. Farmacologia e Toxicologia de *Peumus boldus* e *Baccharis genistelloides*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Paraíba: Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, v.18 n. 2. 2008.

SANTOS, José Ewerton Felinto dos. et al. Atividade antifúngica *In Vitro* de Plantas Medicinais frente a leveduras isoladas de secreção vaginal. **Sabios Revista de saúde e biologia**. [S.l.]; v. 11 n. 3 p.34 - 44, 2016.

SANTOS, Luciane Aparecida. Determinação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da planta *Plectranthus ornatus* codd (Boldo-chinês). **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**. Três Corações, v.12 n.1 p.119-129, 2014.

TUKEY, J.W. The problem of multiple comparisons. **Mimeographs Princeton University, Princeton**, N.J., 1953.

VEIGA JUNIOR, Valdir F.; PINTO, Angelo C.; MACIEL, Maria Aparecida M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**. São Paulo, vol.28, n.3, pp.519 - 528 2005.

CORREA, L, T, et. al. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca* e sua incorporação em um creme mucocutaneo, **Revista Fitos**, Rio de Janeiro vol. 14 p. 26-37 2020.

SANTANA, F. P. Métodos computacionais para calculo na densidade superficial bacteriana em placa de petri como indicador de infecção urinaria. **Programa de pós-graduação em engenharia biomédica** Brasília- DF, 2018.

COSTA F. S. Potencial antifúngico do extrato de *Terminalia catappa* linn sobre biofilme de *Candida albicans* desenvolvido em resina acrílica São Luiz 2018.