



POTENCIAL ANTIMICROBIANO IN VITRO DE *Anadenanthera macrocarpa* (Angico) sobre *Candida krusei*

Crislayne Marinho^{1*}, Nabuêr Silva¹, Ivone Souza¹

¹Laboratório de Cancerologia experimental, UFPE.

*crislaynegoncalo@hotmail.com

INTRODUÇÃO

As plantas e seus componentes são usados desde a antiguidade na prática fitoterápica. Sendo visto, ao passar da história, sua vasta capacidade medicinal, entre elas o seu potencial antimicrobiano.

Anadenanthera macrocarpa, conhecida popularmente como angico, é uma espécie rica em atividade biológica, apresentando atividade antimicrobiana já comprovada em algumas espécies bacterianas (SILVA, 2011), porém pouco estudada com relação ao universo miceliano.

As infecções por *Candida* sp. vem aumentando nas últimas décadas. Essa problemática se deve a vários fatores, entre eles, ao tratamento com antimicrobianos de amplo espectro. O uso destes continuamente, propicia o desenvolvimento de resistência microbiana pelo fungo. Sendo assim, poucas se tornam as opções medicamentosas para o tratamento da infecção, já que as outras drogas disponíveis são, em grande parte, tóxicas ao organismo, como a anfotericina B (Zardo e Merazzi, 2004).

Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial antifúngico de extratos etanólicos das cascas de *Anadenanthera macrocarpa* sobre *Candida krusei* a partir de um estudo etnofarmacológico realizado em comunidades quilombolas situadas na área rural no município de Garanhuns-PE.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta do material botânico

Cascas de *Anadenanthera macrocarpa* foram coletadas em comunidades quilombolas, localizadas na área rural do município de Garanhuns-PE. A planta escolhida para o estudo foi selecionada com base em informações etnomedicinais (Tabela 1) obtidas através da aplicação de questionário semi-estruturado em estudo etnobotânico com moradores dessas comunidades perante autorização e aprovação do projeto junto ao Comitê de Ética em comprimento as exigências legais (CAAE No. 24906014.9.0000.5207).

Tabela 1. Espécie medicinal selecionada para o estudo, citada em entrevistas por moradores das comunidades quilombolas do município de Garanhuns-PE, 2014.

Espécie vegetal	Família	Nome local	Indicações terapêuticas	Forma de uso	Parte utilizada
<i>Anadenanthera macrocarpa</i>	Anacardiaceae	Angico	Anti-inflamatório, cicatrizante	Banho de assento	Cascas

Fonte: Produção do autor (2017).

Obtenção do extrato etanólico

Os extratos foram obtidos por rotaevaporação. As cascas secas de *A. macrocarpa* foram imersas em recipiente contendo solução

alcoólica pura para extração de metabólitos. Posteriormente a solução foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo para obtenção final do extrato.

Microrganismo teste

Para a realização do ensaio antimicrobiano foi utilizada a linhagem 5840 de *Candida krusei*. A cepa foi cedida para o estudo pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, unidade acadêmica de Garanhuns. A espécie ensaiada havia sido depositada pelo Cerpe Laboratórios na Micoteca da Universidade Federal de Pernambuco, Campus Recife, coletada de uma amostra de sangue via hospedeiro, seguindo norma padrão vigente para a realização do procedimento.

Atividade antimicrobiana por difusão em ágar por poço

Para verificar se o extrato exerce ação antifúngica frente à levedura testada, foi adotada a metodologia proposta por Moody et al. (2004). Os extratos foram avaliados nas concentrações de 25mg/mL, 50mg/mL, 100mg/mL com base na metodologia de Alfaia e Aumeida (2016). Para realização da técnica foram feitos orifícios de 6 mm de diâmetro no meio de cultura ágar sabouraud em placas de Petri, com auxílio de molde para perfuração dos poços.

A concentração do inóculo foi padronizada conforme a NCCLS (2002). Para tal, foram preparadas suspensões de cultura, diluídas em solução salina 0,85% utilizando a escala de 0,5 de MacFarland até a obtenção de aproximadamente de 1×10^6 a 5×10^6 células por mL de leveduras. As placas foram inoculadas na superfície pelos microrganismos com o uso de uma alça de Drigalski e, então, os poços foram preenchidos com 50 µL do extrato na concentração a ser testada. Posteriormente, as placas foram incubadas a 35°C por 48 horas. Como controle positivo foram utilizados os antifúngicos comerciais miconazol e nistatina, enquanto controle negativo utilizou-se o diluente Dimetilsulfóxido (DMSO).

Os halos de inibição do crescimento do microrganismo foram medidos em milímetros, com auxílio de uma régua milimetrada e os resultados foram expressos como a média dos halos encontrados em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram utilizadas três concentrações diferentes do extrato. O resultado da análise antifúngica usando a concentração de 100 mg, que foi a maior concentração utilizada, está retratado na figura 1. A partir desse ensaio foi evidenciado que não houve formação de zonas significativas de inibição de crescimento fúngico na presença do extrato vegetal.

Conforme visto em Silva (2011), o extrato desta planta apresentou atividade antimicrobiana contra cepas de algumas bactérias

testadas. Sendo observado que o perfil da atividade antimicrobiana difere a depender da concentração do extrato, frações do material utilizado (cascas, galhos ou folhas), o que pode ter influenciado também nos resultados observados em nosso estudo.

Já em Silva (2010), obtiveram-se resultados que indicam atividade alelopática deste extrato em todas as concentrações testadas, em comparação com o grupo controle. Sendo essa alelopatia correlacionada com a composição da planta, como a presença de alcalóides, poliacetilenos, ácidos graxos, terpenos, peptídeos, fenóis (MEDEIROS, 1990; DELACHIAVE et al., 1999; VYVYAN, 2002), entre outros.

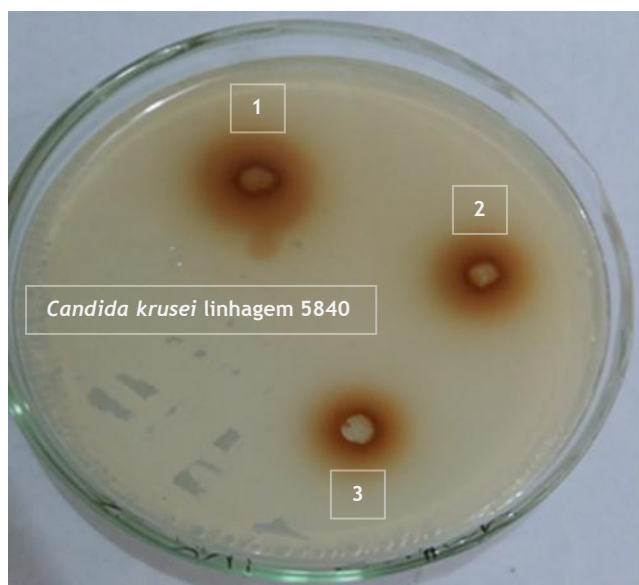


Figura 1. Halos de inibição de crescimento de *Candida krusei* promovidos pelo extrato etanólico de *Anadenanthera macrocarpa* na concentração de 100 mg em triplicata (1,2,3). (Fonte: produção do autor, 2017).

Realizando as medidas dos diâmetros dos halos de inibição de crescimento microbiano formados (Tabela 2) a partir do ensaio de difusão em ágar, foi observada uma pequena variação dada a partir do aumento da concentração do extrato etanólico, o que indica influência desta na inibição do crescimento fúngico.

Vários fatores podem vir a interferir na difusão do extrato no ágar, o que interfere diretamente na atuação do extrato sobre o microorganismo. Entre os mais importantes estão: composição dos meios de cultura utilizados, a disponibilidade de oxigênio ao microorganismo, a quantidade de inóculo e as condições de incubação desse microorganismo (OSTROSKY et al., 2008).

Tabela 2. Medidas dos diâmetros dos halos de inibição de crescimento microbiano (mm) obtidas pela metodologia de difusão em ágar por poço utilizando extratos etanólicos de *Anadenanthera macrocarpa* frente *Candida krusei*.

Planta	Concentração do extrato etanólico (mg)		
	25 mg	50 mg	100 mg
	Média da zona de inibição	Média da zona de inibição	Média da zona de inibição
Angico	3	5	7

Fonte: Produção do autor (2017).

A cepa de *Candida krusei* utilizada durante o estudo apresentou sensibilidade ao antimicrobiano comumente usado, miconazol, o que propiciou a formação de um halo de inibição de crescimento significativo (Tabela 3), o mesmo não foi observado para o diluente Dimetilsulfóxido, o qual não apresentou efeito inibitório frente a cepa padrão, demonstrando que este não interferiu nas propriedades antimicrobianas do extrato vegetal.

Tabela 3. Medidas dos diâmetros dos halos de inibição de crescimento microbiano (mm) obtidas pela metodologia de difusão em ágar por poço utilizando antimicrobianos comerciais (Miconazol e Nistatina) frente *Candida krusei*.

Controles positivos e negativos	Média da zona de inibição
Miconazol (20mg/g)	16
Dimetilsulfóxido	-

(-): ausência de zona de inibição.

Porém, no estudo de Dalazen et al. (2011), mais de 90% das cepas de *Candida* sp. de isolado vaginal apresentaram resistência a este antifúngico, o que retifica a necessidade de busca de novas possibilidades terapêuticas.

CONCLUSÕES

O extrato etanólico da planta de *Anadenanthera macrocarpa* apresentou atividade antimicrobiana, com formação de halos de inibição frente à espécie de *Candida krusei*. Indicando então que o extrato pode ser um promissor antifúngico, sendo necessários ainda mais outros estudos com concentrações mais variadas.

REFERÊNCIAS

- ALFAIA, D.P.S.; ALMEIDA, S. S. M. S. Avaliação fitoquímica, análise citotóxica e antimicrobiana do extrato bruto etanólico das folhas de *Annonamuricata* L. (Annonaceae). *Biota Amazônia*, Macapá, v. 6, n. 1, p. 26-30, 2016.
- DALAZEN, DANIELA, ZANROSSO, DANUZA, WANDERLEY, LILIANE, LOPES DA SILVA, NELCI, MENEGHELLO FUENTEFRIA, ALEXANDRE, Comparação do perfil de suscetibilidade entre isolados clínicos de *Candida* spp. orais e vulvovaginais no Sul do Brasil. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* [en línea] 2011, 47 (Febrero-Sin mes) : [Fecha de consulta: 7 de diciembre de 2017] Disponible en: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=393541958004>> ISSN 1676-2444.
- DELACHIAVE, M. E. A.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Efeitos alelopáticos de grama-seda (*Cynodon dactylon*) na germinação de sementes de pepino, milho, feijão e tomate. *Revista Brasileira de Sementes*, São Paulo, v. 21, p. 194-197, jan. 1999.
- MOODY J.O et al. Do *Aloe vera* and *Ageratum conyzoides* enhance antimicrobial activity of traditional medicinal soft soaps (Osedudu)? *J. Ethnopharmacol.* 92, p.57-60, 2004.
- MEDEIROS, A. R. M. Alelopática: importância e suas aplicações. *Revista Hortisul*, Pelotas, v. 1, n. 3, p. 27- 32, jul. / set. 1990.
- NCCLS. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras; Norma Aprovada—Segunda Edição. NCCLS document M27-A2 [ISBN 1-56238-469-4]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, Estados Unidos, 2002.
- OSTROSKY, E. A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. 2008. Disponível em: <<http://producao.usp.br/handle/BDPI/6055>>. Acesso em: 05 dez. 2017.
- SILVA, Kelle Oliveira. Avaliação das atividades antimicrobiana, aderência, antioxidante, anti-inflamatória e antinociceptiva de *Anadenanthera macrocarpa* (Benth) Brenan. 2011. 97f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas). Universidade Federal da Bahia, Vitória da Conquista - BA.
- SILVA, R. M. G. et al. POTENCIAL ALELOPÁTICO DE EXTRATO ETANÓLICO DE *Anadenanthera macrocarpa* E *Astronium graveolens*. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/41462/WO_S000282056900018.pdf?sequence=3&isAllowed=y>. Acesso em: 07 nov. 2017.

VYVYAN, J. R. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. *Tetrahedron*, Philadelphia, v. 58, n. 1, p. 1631-1646, jan. / mar. 2002.

ZARDO, V.; MEZZARI, A. Os antifúngicos nas infecções por *Candida* sp. 63. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Adelina_Mezzari/publication/239927609_Os_antifungicos_nas_infeccoes_por_Candida_sp/links/5565d9d408aeccd7773598f3.pdf>. Acesso em: 07 nov. 2017.