Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.14, 2023
ISSN 2178-6925

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO METANÓLICO DE *Psidium guineense* (Myrtacea) CONTRA CEPAS DE *Candida glabrata* E *Candida parapsilosis*

EVALUATION OF THE ANTIFUNGAL ACTIVITY OF THE EXTRACT extract OF Psidium guineense (Myrtacea) AGAINST CELES OF Candida glabrata AND Candida parapsilosis

Emanoel Vitor Alves da Silva

Graduando em Odontologia, Universidade Federal de Campina, Patos/PB, Brasil

Email: emanoel.vitor.alves@gmail.com

Marcelo Antônio de Souza Silva

Graduando em Odontologia, Universidade Federal de Campina, Patos/ PB, Brasil

Email: marcelo_asouza@outlook.com

Vinicius Rocha Lima Santos

Graduando em Odontologia, Universidade Federal de Campina, Patos/ PB, Brasil

Email: rocha.lima@estudante.ufcg.edu.br

Maria Alice Araújo de Medeiros

Doutoranda em Ciência Animal, Universidade Federal de Campina Grande, Patos/PB, Brasil

Email: medeirosallice22@gmail.com

José Lucas Medeiros Torres

Graduando em Odontologia, Universidade Federal de Campina, Patos/PB, Brasil

Email: jose.torres@estudante.ufcg.edu.br

Edeltrudes de Oliveira Lima

Doutora em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa/PB, Brasil

Email: edelolima@yahoo.com.br

Yanna Carolina Ferreira Teles

Doutora em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos, Universidade Federal da Paraíba, Areia/PB, Brasil

Email: yannateles@gmail.com

Abrahão Alves de Oliveira Filho

Doutor em Farmacologia, Universidade Federal de Campina, Patos/PB, Brasil

Email: abrahão.farm@gmail.com

RESUMO

A candidíase é uma infecção fúngica muito comum de na cavidade oral, que tem como fator etiológico a proliferação e o crescimento de microrganismos do gênero *Candida*, onde este já vive no meio oral de forma comensal, sem causar nenhum prejuízo ao hospedeiro, fazendo parte assim da microbiota oral saudável. Além da boca esses fungos também podem se proliferar e colonizar mucosas e pele, gerando, portanto, uma doença fúngica sistêmica. Para o tratamento dessas infecções são utilizados diversos medicamentos com propriedades antifúngicas, tais como, cetoconazol, fluconazol, nistatina e anfotericina B, entretanto alguns fatores vêm mostrando a ineficácia desses medicamentos. Um deles é a resistência que as cepas fúngicas apresentam frente aos antimicóticos, como também a adesão do paciente e os efeitos adversos que os medicamentos sintéticos ocasionam. Dessa maneira precisa-se buscar vias alternativas, como por exemplo o uso das plantas medicinais que vem sendo uma forma viável e promissora para a descoberta de novos agentes fitofármacos com grande potencial biológico. Com base em estudos da literatura que evidenciam as características físico-químicas e etnofarmacológicas das espécies de plantas medicinais, esta pesquisa teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica do extrato metanólico de *Psidium guineense* (Myrtaceae). O estudo se deu através da realização de ensaio *in vitro* onde foi utilizado como substância-teste o extrato metanólico de *Psidium guineense* frente às espécies fúngicas de *Candida glabrata* e *Candida parapsilosis* previamente identificadas e mantidas em meios de cultura de ágar Sabouraud dextrose – ASD e caldo Sabouraud dextrose – CSD. Ademais, para realização do controle positivo foi empregado a nistatina como antifúngico padrão. Por conseguinte, foi realizada a técnica de microdiluição em caldo para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do extrato metanólico de *Psidium guineense*. Após a realização dos testes e a avaliação dos resultados notou-se que a CIM do extrato metanólico de *Psidium guineense* foi superior a 1024 $\mu g/mL^{-1}$ para as duas cepas testadas. Dessa forma conclui-se, que o extrato metanólico da espécie vegetal *Psidium guineense* não teve inibição a proliferação fúngica nas concentrações da técnica usada. Assim é necessário novos estudos (com metodologias diferentes) para comparar resultados obtidos, podendo ser possível o desenvolvimento de um novo produto natural a depender dos resultados, com atividade antifúngica eficiente, de modo que seja usado entre as tecnologias em saúde para combate às infecções fúngicas no fito de mitigar o exponencial aumento da resistência micótica que se torna uma objeção para obtenção do sucesso do tratamento medicamentoso aplicado à Odontologia.

Palavras-chaves: Farmacologia; Fitoterapia; Odontologia.

ABSTRACT

Candidiasis is a very common fungal infection of the oral cavity, whose etiological factor is the proliferation and growth of microorganisms of the genus Candida, which already live in the oral environment in a commensal way, without causing any harm to the host, thus forming part of the healthy oral microbiota. In addition to the mouth, these fungi can also proliferate and colonize mucous membranes and skin, thus generating a systemic fungal disease. Various drugs with antifungal properties are used to treat these infections, such as ketoconazole, fluconazole, nystatin and amphotericin B. However, some factors have shown these drugs to be ineffective. One of them is the resistance of fungal strains to antimycotics, as well

as patient compliance and the adverse effects that synthetic drugs cause. It is therefore necessary to look for alternatives, such as the use of medicinal plants, which has been a viable and promising way of discovering new phytopharmaceutical agents with great biological potential. Based on studies in the literature that show the physicochemical and ethnopharmacological characteristics of medicinal plant species, this research aimed to evaluate the antifungal activity of the methanolic extract of Psidium guineense (Myrtaceae). The study was carried out through an in vitro test in which the methanolic extract of Psidium guineense was used as a test substance against the fungal species Candida glabrata and Candida parapsilosis, which had been previously identified and maintained in Sabouraud dextrose agar (SDA) and Sabouraud dextrose broth (SSB) culture media. In addition, nystatin was used as the standard antifungal agent for the positive control. The broth microdilution technique was then used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of the Psidium guineense methanolic extract. After carrying out the tests and evaluating the results, it was noted that the MIC of the methanolic extract of Psidium guineense was higher than 1024 µg/mL-1 for the two strains tested. It can therefore be concluded that the methanolic extract of the Psidium guineense plant species did not inhibit fungal proliferation at the concentrations used in the technique. Thus, further studies (with different methodologies) are needed to compare the results obtained, and it may be possible to develop a new natural product, depending on the results, with efficient antifungal activity, so that it can be used among health technologies to combat fungal infections in order to mitigate the exponential increase in mycotic resistance, which has become an objection to successful drug treatment applied to dentistry.

Keywords: Pharmacology; Phytotherapy; Dentistry.

1 INTRODUÇÃO

A candidíase é uma infecção oportunista causada por fungos principalmente do gênero *Candida*, que por sua vez, apresenta uma grande variedade de espécies, dentre elas pode-se citar a *Candida glabrata* e *Candida parapsilosis.* Atualmente, observa-se um aumento no número de casos de Candidíase, visto que seus os microrganismos se apresentam em vários tipos. Geralmente as espécies de *Candida* são colonizadoras da microbiota normal do ser humano, porém a doença é causada quando ocorre um desequilíbrio na quantidade de fungos do organismo, assim, pelo fato dos fungos serem colonizadores das microbiotas da pele, trato gastrointestinal, geniturinário e cavidade oral por exemplo, a doença pode se manifestar em várias partes do corpo, podendo ser localizada ou até mesmo sistêmica (Coelho; Alvim, 2018).

A candidíase bucal é muito comum de acontecer, podendo se apresentar na forma aguda ou crônica. Entre as manifestações clínicas bucais mais frequentes têm-se edema, eritema, pontos avermelhados, sensação de queimação, ardência, halitose, dificuldade de deglutição, gosto amargo, além da dificuldade de higienização e em alguns casos o sangramento. Os fatores predisponentes a essa condição na cavidade oral são: o uso da prótese total ou removível, quando está relacionada a má higienização e adaptação inadequada, doenças sistêmicas, deficiência imunitária, redução do fluxo salivar, e a utilização de alguns medicamentos de largo espectro. E além disso, a candidíase com fatores sistêmicos está mais relacionada em pacientes que são recém nascidos, portadores do vírus HIV, de diabetes mellitus, imunossuprimidos, leucêmicos

e que fazem o uso abusivo de corticoides e antibióticos (Da rosa *et al*., 2021).

As espécies de fungos do gênero *Candida* são seres comensais que se tornam patogênicos em condições favoráveis a eles, como por exemplo a queda de imunidade do hospedeiro, e, por essa razão, esses seres são considerados como patógenos oportunistas. Os sítios humanos onde os fungos se colonizam apresentam diferentes microbiotas, além de diferentes características físico-químicas, o que permite a capacidade desses microrganismos de se adaptarem a condições inóspitas do sítio de colonização. Assim os principais fatores de virulência para as espécies do gênero *Candida* são: secreção de enzimas hidrolíticas, expressão de adesinas e invasinas, tigmotropismo, bomba de efluxo, formação de biofilme e morfologia celular (Rocha *et al*., 2021).

A indústria farmacêutica produz diversos medicamentos para o tratamento de doenças fúngicas, dentre os principais antifúngicos mais utilizados nessa terapêutica tem-se os triazólicos como fluconazol, que são derivados poliênicos como anfotericina B e o grupo das equinocandinas como a caspofungina. Tais medicamentos mostram ação antifúngica positiva, todavia, se observa um mecanismo de resistência que as cepas de *Candida* demonstraram sobre eles, e sobre outros antifúngicos. Portanto, a busca por terapias alternativas como a fitoterapia vem crescendo e se tornando uma forma de tratamento mais seguro (Silva *et al*., 2021).

Além da resistência, o tratamento com antifúngicos convencionais podem gerar efeitos colaterais e adversos significativos no organismo humano, quando estes são usados de forma sistêmica, frequente e duradoura. As reações adversas presentes podem se dar como alterações no paladar, reações gastrointestinais, além de alergias. Dessa maneira, a busca por uma alternativa terapêutica que gere uma melhor eficácia, e que não cause danos ao indivíduo se torna imprescindível, sendo notório a importância e vantagem do uso de plantas medicinais contra cepas de fungos do gênero *Candida* (Brandão *et al*., 2021).

Dentre as famílias das plantas medicinais na fitoterapia, se destaca a família *Myrtaceae*, que constitui uma das mais importantes famílias de Angiospermas no Brasil. Essa família compreende cerca de 140 gêneros e 3.500 espécies de árvores e arbustos, sendo distribuídas em regiões tropicais e subtropicais da Austrália, Ásia e América. A família *Myrtaceae* corresponde a 1,32% do total de angiospermas conhecidas, sendo assim, bastante representativa, considerando um total de 400 famílias (Do nascimento *et al*., 2018).

O *Psidium guineense* pertence a essa família *Myrtaceae*, e é uma espécie comum em regiões tropicais, podendo ser encontrada em regiões do litoral brasileiro, popularmente é conhecido como Araçá e apresenta potencial para tratar infecções gastrointestinais e geniturinárias. Além disso, estudos realizados comprovaram o seu potencial farmacológico, tendo inclusive, resultados *in vitro* positivos para as atividades antimicobacteriana, antioxidante, anti-inflamatória e anti proliferativo do óleo essencial de suas folhas (Do nascimento *et al*., 2018).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral:

Avaliar a atividade antifúngica do extrato metanólico de *Psidium guineense (Myrtaceae).*

2.2 Específicos:

- Verificar a capacidade antifúngica do extrato de *Psidium guineense* sobre cepas de

  Candida glabrata;

- Investigar a atividade inibitória do extrato de *Psidium guineense* para cepas de *Candida parapsilosis;*

- Comparar o efeito antifúngico do extrato de *Psidium guineense* frente às diferentes cepas de fungos testadas;

- Desenvolver um novo produto natural com atividade antifúgica para cepas avaliadas;

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Em períodos passados os fungos já chegaram a ser considerados como vegetais, entretanto, eles apresentam algumas características capazes de os distinguir das plantas, pois não conseguem sintetizar clorofila ou qualquer pigmento fotossintético, como também possuem parede celular composta de quitina e não de celulose (existindo algumas exceções), além de apresentarem a capacidade de armazenar glicogênio. Desse modo os fungos foram classificados em um reino à parte, chamado de Reino Fungi. Esses microorganismos muitas vezes podem ser patogênicos, sendo encontrados dispersos no meio ambiente, causando assim várias doenças aos seres humanos onde muitas dessas podem se tornar graves (Silva *et al*., 2020).

Em relação a morfologia dos fungos, macroscopicamente apresentam características de consistência cremosa, brilhantes ou opacas, com coloração branca a creme, podendo também ter coloração marfim ao vermelho. Já microscopicamente seu diâmetro pode variar de 5 a 8 mm, sendo células simples, arredondadas, ovais ou alongadas, com uma parede celular delgada. Quando liberados, formam células independentes ou podem continuar unidas, formando células alongadas, que são as pseudo-hifas, onde se diferenciam de células verdadeiras, as hifas, por apresentarem constrição nos septos (Silva *et al*., 2020).

As infecções fúngicas incluem um grande espectro de doenças superficiais e invasivas, que acometem pacientes expostos a uma inúmera diversidade de fatores de risco. Os pacientes saudáveis também estão sujeitos ao acometimento da doença, sendo comum infecções de pele e mucosas que apresentam alterações pouco significativas nos locais de resposta do hospedeiro no sítio da infecção. Porém, as infecções por *Candida* podem serem mais graves quando são sistêmicas, podendo comprometer as vísceras, em virtude da disseminação da levedura no organismo por via hematogênica, além de complicações infecciosas que geralmente são vistas em pacientes críticos, como portadores de doenças degenerativas e/ou neoplásicas (Colombo; Guimarães, 2003).

A candidíase é uma doença fúngica multifacetada que pode se manifestar como infecções mucoso-cutâneas, viscerais e até mesmo disseminada. O gênero de fungos causador da doença faz parte da microbiota normal do ser humano, podendo apresentar inúmeras e diferentes espécies na sua composição, porém, seu surgimento ocorre devido a um desequilíbrio entre o fungo, mucosa e os mecanismos de defesa do hospedeiro, deste modo irá acontecer a transição do patógeno comensal para patogênico, gerando assim a doença (Ribeiro *et al*., 2019).

Os fungos do gênero *Candida* são a terceira causa das septicemias, em geral, que ocorrem no mundo. No Brasil, esse gênero foi descrito como sendo o sétimo agente etiológico causador das infecções sanguíneas. Das espécies mais prevalentes tem-se a *C. Parapsilosis* representando 24,1% e *C. glabrata* com 10,2%,com uma taxa de mortalidade de 72,2% (Rocha *et al*.,2021).

As espécies de *Candida* se desenvolvem mediante alguns fatores predisponentes. Na cavidade bucal pode-se citar como exemplo a mielossupressão, o comprometimento do fluxo salivar e lesões de mucosite, podendo assim o fungo adentrar na mucosa oral e gerar uma inflamação dos seus tecidos. A Candidíase pode

se apresentar em várias formas: a pseudomembranosa, que tem como característica a formação de uma placa esbranquiçada, onde na sua remoção deixa uma superfície eritematosa; a forma crônica hiperplásica,onde a mesma tem a aparência de placa esbranquiçada não removida a raspagem; a candidíase eritematosa, que apresenta eritemas locais ou difusos; e ainda a queilite angular, formadas por lesões eritematosas e/ou ulceradas nas comissuras labiais (Pereti *et al*., 2021).

Segundo Alattas *et al,* no Brasil, entre 1979 e 2001, ocorreu um aumento de 207% das infecções da corrente sanguínea decorrentes de fungos, do gênero *Candida*. Um local onde ocorre rápida divisão celular desses microrganismos é a cavidade oral, se tornando portanto um meio ideal a infecções fúngicas, como a candidíase oral, principalmente em indivíduos debilitados sistematicamente. As espécies de *Candida* como a *Glabrata* e *Parapsilosis* apresentam algumas diferenças na morfologia, composição da parede celular, produção de fatores de virulência e sensibilidade aos antifúngicos (Barros *et al*., 2022).

Sabe-se que na cavidade bucal dos seres humanos habitam diversos tipos de microorganismos. Dentre esses, se tem os do gênero *Candida* que são leveduras comensais, estas podem ser encontradas também na orofaringe e nas secreções brônquicas. Na cavidade oral os fungos podem se apresentar, de forma comensal, em cerca de 20 a 70% de espécies de levedura, sendo que estas estão presentes em cerca de 50% de pessoas saudáveis (Rossis *et al*., 2011).

Para o tratamento dessas infecções fúngicas se inclui agentes antifúngicos tópicos e sistêmicos, sendo os mais mencionados na literatura o Fluconazol e Anfotericina B, encontrando-se ainda Nistatina, Cetoconazol, Itraconazol e Clotrimazol. Além disso é imprescindível que se tenha a identificação da espécie de *Candida* para o tratamento do paciente ser realizado de forma correta, visto que a sensibilidade aos antifúngicos varia de acordo com a espécie. A identificação da espécie precisa e rápida influencia diretamente no desfecho da doença, também é necessário saber que existem alguns fatores predisponentes do indivíduo desenvolver uma infecção fúngica, como o uso de antibióticos de largo espectro ou de imunossupressores como os corticosteroides, uso de hipossalivantes e xerostomia, disfunções endócrinas como o diabetes, má higiene oral, hábito tabagista, além dos tratamentos antineoplásicos quimioterápicos e radioterápico (Cesar *et al*., 2021).

No entanto, foi observado que essas cepas de fungos passaram a adquirir resistência ao uso dos antifúngicos convencionais, sendo uma das principais causas

dessa resistência o uso prolongado destes medicamentos sem supervisão médica, o que pode desencadear o surgimento de novas espécies do gênero *Candida* (Oliveira *et al*., 2020).

Com a crescente resistência dos agentes infecciosos a vários antifúngicos sintéticos para tratamento da candidíase, além dos diversos efeitos colaterais relacionado a essas medicações, se evidencia a motivação dos pesquisadores de buscar novas opções de tratamento, sendo os produtos de origem vegetal muito estudados devido à sua baixa toxicidade relacionada ao uso na medicina tradicional (Santos *et al.,* 2017).

Assim, nota-se a necessidade da busca de terapias complementares para o tratamento de infecções, incluindo as fúngicas. Conforme a OMS (Organização Mundial da Saúde), aproximadamente 80% da população mundial utiliza a medicina alternativa, principalmente os medicamentos fitoterápicos, para suprir os medicamentos convencionais. Na África, por exemplo, 80% da população depende do uso destes medicamentos, que representam terapias alternativas frente ao alto custo dos fármacos sintéticos (Ncube *et al*., 2018).

O uso das plantas medicinais com propriedades farmacológicas para o tratamento de doenças está presente na humanidade desde antiguidade e continua sendo utilizada até aos dias atuais, em vista de seus inúmeros benefícios para saúde.O Brasil é o país com a maior biodiversidade do planeta, apresentando cerca de 15% a 20% da totalidade mundial. Dentre os elementos dessa biodiversidade estão as plantas que são a matéria prima para produção dos medicamentos fitoterápicos. Além disso, o Brasil também apresenta um grande potencial genético para o avanço de novos medicamentos, e um importante conhecimento tradicional em relação ao uso de plantas medicinais (Almeida *et al*., 2022).

A diversidade de espécies vegetais é inúmera, dentre elas as da família *Myrtaceae* que também apresenta uma diversidade de espécies, onde as mesmas podem ser encontradas pelos vários biomas brasileiro, dentre eles se tem a Caatinga, que são incluídos cerca de 100 gêneros e 3.500 espécies nessa família. Um dos gêneros mais conhecidos é o *Psidium*, que abrange aproximadamente 110 espécies, ganhando destaques o *P. cattleyanum, P. guineense Sw., P. guajava, P. myrtoides, P. australis*. Na região Nordeste do Brasil se identifica de 34 a 110 espécies (Brito, *et al*., 2018).

As espécies de *Psidium* possuem algumas características, como apresentar folhas simples, antagônicas, comumente cruzadas, flores sozinhas, pétalas livres com cor brancas ou de cor creme, sendo espontaneamente pertencente ao clima neotropical (Campos, 2010; Soares-Silva & Proença, 2008). Entre as espécies desse gênero, têm-se os araçarazeiros, que são usados com as finalidades domésticas dos seus frutos e exploração da madeira. A casca, raiz e folhas são utilizadas como terapias populares de doenças. Já os frutos desses vegetais possuem muitas sementes, que podem gerar frutos de tamanho grande (Campos, 2010; Silva, 2019).

A *Psidium guineense* recebe outros nomes populares tais como "araçá verdadeiro", "araçá do campo" e "goiabinha selvagem". Geralmente é uma árvore pequena de 6 metros de estatura, que possui brotos aveludados e seu fruto varia entre subgloboso e elipsoidal, comumente possui polpa amarelada, o seu fruto pode possuir até 250 sementes com uma grande quantidade de vitamina C (Campos, 2010). Também é usada para diversos fins, como por exemplo, fabricação de produtos alimentícios como doces, geleias e sorvetes, (Silva, 2019) ,além de apresentar um considerável potencial antimicrobiano e antibacteriano (Silva, 2019).

Foi visto em uma pesquisa que buscava avaliar o potencial antibacteriano e antiaderente *in vitro* do extrato hidroalcoólico das folhas do araçá (*P. guineense*) em meio a microrganismos orais, que o mesmo apresentou respostas positivas (Silva, 2019). Diante disso, a pesquisa com o extrato metanólico de *Psidium guineense* torna-se importante para o desenvolvimento de novas substâncias contra as cepas de *Candida glabrata* e *parapsilosis*, gerando assim o conhecimento de novas alternativas terapêuticas.

4 METODOLOGIA

Ensaio *in vitro*

Substância-teste

Para o ensaio foi utilizado o extrato metanólico das folhas de *Psidium guineense*, que foram cedidos pela equipe da Profª. Drª. Yanna Carolina Ferreira Teles, da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

O extrato foi conservado em frasco de vidro âmbar e mantido sob refrigeração. As emulsões do extrato nas diferentes concentrações foram preparadas no momento de execução do ensaio. Em um tubo de ensaio esterilizado, foi adicionado 60.000 µg do extrato, 0,15 mL de dimetilsulfóxido (DMSO), 0,06 mL de Tween 80 (INLAB/Indústria Brasileira) e quantidade suficiente para 3 mL de água destilada estéril. A mistura foi

agitada por 5 minutos em aparelho Vortex (Fanem), obtendo uma emulsão com concentração de 20.000 µg/mL do extrato, 5% de DMSO e 2% de Tween 80. E através de diluições em água destilada ou no próprio meio de cultura foi obtida a concentração desejada do extrato. Na pesqiosa foram seguidas as normas do CGEN- Conselho de Gestão do Patrimônio Genético, cadastrado na plataforma SISGEN sob o número de protocolo A81C329.

Espécies fúngicas

Foram utilizadas cepas de *Candida glabrata* (LM 06, LM 17, LM 116, LM 302), e cepas de *Candida parapisilosis* (ATCC 22019, LM 04, LM 09, LM 14 e LM 302) disponíveis no Laboratório de Microbiologia da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas (UACB)/CSTR/UFCG.

Todas as cepas foram mantidas em ágar Sabouraud dextrose (ASD) a uma temperatura de 4°C, sendo utilizados para os ensaios repiques de 24 horas em ASD incubados a 35 °C. No estudo da atividade antimicrobiana foi utilizado um inóculo fúngico de aproximadamente 1 - 5 x 106 UFC/mL padronizado de acordo com a turbidez do tubo 0,5 da escala de McFarland (Cleeland; Squires, 1991; Hadacek, Greger, 2000).

Meios de cultura

Foram utilizados os meios ágar Sabouraud dextrose - ASD (Difco Lab., USA) para manutenção dos micro-organismos; e caldo Sabouraud dextrose - CSD (Difco Lab., USA) para os ensaios *in vitro*; preparados conforme as instruções do fabricante.

Fármaco antifúngico

Foi utilizado como antifúngico padrão (controle positivo), a nistatina em pó (Pharma Nostra, Rio de Janeiro). As soluções foram preparadas no momento de execução dos testes, para alcance das concentrações desejadas.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima do extrato de *Psidium guineense* foi determinada pela técnica de microdiluição em caldo (Cleeland; Squires, 1991; Hadacek, Greger, 2000). Foram utilizadas placas de 96 orifícios estéreis e com tampa. Em cada orifício da placa, foi adicionado 100 µL do meio líquido caldo Sabouraud dextrose duplamente concentrado. Em seguida, 100 µL da emulsão do extrato na concentração inicial de 2048 µg/mL (também duplamente concentrado), sendo dispensados nas cavidades da

primeira linha da placa. E por meio de uma diluição seriada em razão de dois, foram obtidas as concentrações de 1024, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8 e 4 µg/mL, de modo que na primeira linha da placa encontrou-se na maior concentração e na última, a menor concentração. Por fim, foi adicionado 10 µL do inóculo de aproximadamente 1-5 x 106 UFC/mL das espécies fúngicas nas cavidades, onde cada coluna da placa referiu-se a uma cepa fúngica, especificamente.

Paralelamente, foi realizado o mesmo ensaio com o antifúngico nistatina nas concentrações de 1024 µg/mL a 4 µg/mL. Um controle de micro-organismo foi realizado colocando-se nas cavidades 100 µL do mesmo CSD duplamente concentrado, 100 µL de água destilada estéril e 10 µL do inóculo de cada espécie. Para verificar a ausência de interferência nos resultados pelos solventes utilizados na preparação da emulsão, no caso o DMSO (dimetilsulfóxido) e o Tween 80, foi feito um controle no qual foram colocados nas cavidades 100 µL do caldo duplamente concentrado, 50 µL de DMSO (5%), 50 µL de Tween 80 (2%) e 10µL da suspensão fúngica. Um controle de esterilidade do meio também foi realizado, onde foi colocado 200 µL do CSD em um orifício sem a suspensão dos fungos.

As placas foram assepticamente fechadas e incubadas a 35°C por 24 - 48 hs para ser realizada a leitura. A CIM para cada extrato e antifúngico foi definida como a menor concentração capaz de inibir visualmente o crescimento fúngico verificado nos orifícios quando comparado com o crescimento controle. Os experimentos foram realizados em duplicata.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os extratos vegetais têm sua atividade antimicrobiana avaliada por meio da menor concentração de substância teste necessária para inibir a proliferação das cepas das espécies dos microrganismos expostos, esse valor determina a Concentração Inibitória Mínima (CIM). Na pesquisa realizada, os testes de microdiluição em caldo, mostrou que a CIM obtida pelo extrato metanólico da planta *Psidium guineense (Myrtaceae*) apresentou resultado maior que 1024 µg/mL-1 para todas as cepas testadas para cepas de ***Candida glabrata*** (LM06, LM 17, LM 116, LM302) tabela 1 e de *Candida parapisilosis* (ATCC 22019, LM 04, LM 09, LM 14 e LM 02) tabela 2.

Tabela 1. Concentração Inibitória Mínima em µg/mL do extrato de *Psidium guineense* contra cepas *de Candida Glabrata.*

	LM 06	*LM 17*	*LM 116*	*LM 302*
1024 µg/mL	-	-	-	-
512 µg/mL	-	-	-	-
256 µg/mL	-	-	-	-
128 µg/mL	-	-	-	-
64 µg/mL	-	-	-	-
32 µg/mL	-	-	-	-
Controle negativo	-	-	-	-
Controle positivo	+	+	+	+

(-) Não houve inibição. (+) Teve inibição. **Fonte:** O próprio autor.

Tabela 2- Concentração Inibitória Mínima (CIM) em µg/mL do extrato de *Psidium guineense* contra cepas *de Candida parapsilosis.*

	ATCC 22019	*LM 04*	*LM 09*	*LM 14*	*LM 02*
1024 µg/mL	-	-	-	-	-
512 µg/mL	-	-	-	-	-
256 µg/mL	-	-	-	-	-
128 µg/mL	-	-	-	-	-
64 µg/mL	-	-	-	-	-
32 µg/mL	-	-	-	-	-
Controle negativo	-	-	-	-	-
Controle positivo	+	+	+	+	+

(-) Não houve inibição. (+) Teve inibição. **Fonte:** O próprio autor.

Conforme Sartoratto *et al*. (2004), valores de Concentração Inibitória Mínima, entre 50-500 µg/mL-1, são considerados de forte atividade, já valores de 600 a 1.500µg/mL-1 apresentam média atividade e acima de 1.500µg/mL-1 são considerados como fraca atividade. Portanto no presente estudo o efeito antifúngico do extrato metanólico de

Psidium guineense não foi possível ser classificado, pois os valores da CIM obtidos pela técnica da microdiluição foram superiores a 1024 µg/mL-1 em todas as cepas testadas.

Nos resultados tabulados também é visto que no controle negativo ocorreu o crescimento microbiano, confirmando assim que as espécies fúngicas utilizadas estavam viáveis, e no controle positivo observou-se que houve a inibição da proliferação fúngica, mostrando que as cepas usadas no teste são vulneráveis ao antifúngico utilizado, que nesse caso foi a nistatina.

Apesar de não ter sido possível encontrar o valor da Concretação Inibitória Mínima do extrato metanólico de *Psidium guineense* para cepas de *Candida* mostrado nesta pesquisa, Branco *et al.* (2023) analisaram as propriedade biológicas do *Psidium guineense* e observaram que as espécies pertencentes a este gênero possui um grande potencial para estudo e posterior utilização de seus óleos essenciais na indústria, seus estudos demonstraram várias atividades biológicas relacionadas aos óleos essenciais destas espécies, atividades antimicrobianas, antioxidantes, acaricidas, larvicidas, dentre outras, evidenciando a necessidade de novos estudos relacionados a essas atividades biológicas.

Além disso Duzino (2023) também mostrou que foi possível fazer a avaliação in silico do potencial antibacteriano de metabólitos secundários das folhas do araçá (*P. guineense*) com a proteína ligadora de penicilina PBP1b presente no banco de dados Protein Data Bank sob o código 5HLA, foi visto que energia de ligação obtida nos procedimentos de docking molecular foi favorável, ou seja, indicou uma afinidade de ligação entre os flavonoides com a macromolécula, portanto o estudo conclui que como a inibição da enzima PBP1b pode acarretar a degradação da parede celular bacteriana, assim se pode justificar a utilização da *Psidium guineense* como finalidade antibacteriana. porém esses resultados abordam um campo teórico por meios dos cálculos in sílico, onde os mesmos sugerem e embasam estudo referente a essa espécie com finalidade antibacteriana agindo na parede celular da bactéria, assim ainda é necessário a realização de mais estudos farmacocinéticos, farmacodinâmicos além de um estudo *in vitro*.

Em relação a citotoxicidade do extrato metanólico de *Psidium guineense* para células sanguíneas humanas, Pereira *et al.* (2020) obteve em seu estudo *in vitro* que extrato de origem natural testado apresentou baixo percentual de hemólise para eritrócitos humanos do sistema ABO, assim o extrato de *Psidium guineense* torna-se um possível candidato promissor para utilização de suas propriedades bioativas em fitoterápicos.

6 CONCLUSÃO

Por fim, pode-se concluir que extrato metanólico da espécie vegetal *Psidium guineense* não apresentou atividade antifúngica, por meio da técnica utilizada nas concentrações utilizadas, frente às cepas de *Candida glabrata* e *Candida parapsilosis* testadas, já que apresentaram uma Concentração Inibitória Mínima (CIM) superior a 1024 µg/mL-1. No entanto, mais estudos devem ser realizados com outras cepas fúngicas para verificar o potencial antifúngico desse composto.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, R. G. *et al*. Ação de Lippia sidoides Cham em infecções da faringe, cavidade oral e problemas dentários: uma revisão de literatura. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v.11, n.3, p. 1-15, 2022.

BARROS, D. B. *et al* . Antifungal effect of α-pinene alone and in association with antifungals against Candida albicans strains. **Research, Society and Development**, v.11, n.4, p.1-8, 2022.

BRANCO, L. A. *et al*. Biological activities of the essential oil of Psidium spp. **PEER REVIEW**, v.5, p. 1-11, 2023.

BRANDÃO, H. N. *et al*. Fitoterapia no tratamento da candidíase oral: um protocolo de revisão de escopo. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v.10, n.7, p.1-7, 2021.

BRITO, L. Potenciais impactos de poluentes do ar sobre a biodiversidade urbana: Uma abordagem em plantas da família Myrtaceae. Dissertação, **Universidade do Oeste Paulista - Unoeste**, Presidente Prudente, SP, 2018.

CAMPOS, L.O. **Etnobotânica do gênero Psidium L. (Myrtaceae) no Cerrado brasileiro**. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade de Braília, Brasília, p.1-86, 2010.

CESAR, K. K. F. A. *et al.* Ação antifúngica de extratos e frações de Annona muricata L. sobre Candida spp. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v.10, n.5, p.1-9, 2021.

CLEELAND, R.; SQUIRES, E. Evaluation of new antimicrobials in vitro and in experimental animal infections. In: Lorian, V. M. D. Antibiotics in Laboratory Medicine. New York: **Willians & Wilkins**, p. 739-788, 1991.

COELHO, A. M.; AILVIM, H. G. O. Ocorrência de Candidíase no homem: uma revisão para informação da população masculina. **Revista JRG De Estudos Acadêmicos**, v.1, n.3, p.09– 16, 2018.

COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por Candida spp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n.5, p. 599–607, 2003.

DA ROSA, C. *et al*. Candidíase Bucal: Aspecto Clínico e Tratamento. **Revista FAIPE**, v. 11, n. 1, p. 155-163, 2021.

DO NASCIMENTO, K. F. *et al.* Anelise Samara Nazari. Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of Psidium guineense Sw. and spathulenol. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 210, p.351-358, 2018.

DUZINO, S. P. M. S. Avaliação in silico do potencial antibacteriano de flavonóides das folhas do araçá (Psidium Guineense SW). Areia: **UFPB/CCA**, p.1-40, 2023.

HADACEK, F.; GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparatibility of results and assay choice. **Phytochemical Analyses**, v.11, p. 137-147, 2000.

NCUBE, N. S.; AFOLAYAN, A. J.; OKOH, A. I. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 16, n.1, p.1-10, 2018.

OLIVEIRA, D. L. *et al*. Espécies de Candida causadoras de vulvovaginites e resistência aos antifúngicos utilizados no tratamento. **Saúde e Pesquisa**, v. 14, n.1, p.1-13, 2020.

PEREIRA, C. T. *et al*. Análise da citotoxicidade do extrato metanólico de Psidium guineense Swartz em células sanguíneas humanas. **Research, Society and Development**, v. 9, p. 1-14, 2020.

PERETI, J. M.; MAZA, L. Ocorrência de candidíase oral em pacientes submetidos a tratamentos antineoplásicos: Ocurrence of oral candidiasis in patients submitted to antineoplastic treatment. **Health Sci Inst**., v. 39, n.3, p.195-198, 2021.

RIBEIRO , F. C. *et al*. Mecanismos de ação dos probióticos sobre Candida spp. e prevenção de candidíase: uma atualização. **Journal of Applied Microbiology**, v. 129, n. 2, p.1-14, 2019.

ROCHA, W. R. V. *et al*. A. Candida genus - Virulence factores, Epidemiology, Candidiasis and Resistance mechanisms. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p.1-13, 2021.

ROSSIS, T. *et al*. Interações entre Candida albicans e hospedeiro. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 32, n.1, p.1-15, 2011.

SARTORATTO, A. et al.Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. Brazilian Journal of Microbiology, v.4, p.1-6 , 2004.

SANTOS, N. S. *et al.* Óleos essenciais no tratamento de dermatozoonoses – revisão de literatura. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v.10, n.17, p.1-10, 2017.

SILVA, R, C, M, O. Avaliação do potencial genotóxico dos extratos de Psidium guineense SW (Araçá Verdadeiro) em células da mucosa oral. Patos: **Universidade Federal de Campina Grande – UFCG**, p.34, 2019.

SILVA, R. C. M. O. *et al*.. Genotoxic Potential of the Metholic Extract of Psidium guineense Sw (Araçá verdadeiro) in Oral Mucosa Cells. **Research, Society and Development**, v. 9, n.7, p., 2020.

SILVA, S. L.; LIMA, M. E.; SANTOS, R.D.T. Onicomicoses por fungos do gênero Candida: uma revisão de literatura. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 9, n.8, p.1-26, 2020.

SILVA, L. C. *et al*. Avaliação da Atividade Antifúngica dos extratos de Morinda Citrifolia e Uncaria Tormentosa sobre as cepas de Candida. **Revista Científica Multidisciplinar**, v.2, n.9, , ,, p.1-8, 2021.

SILVA, R. C. M. O. *et al*. Potencial genotóxico em extrato acetato de etila de Psidium guineense sw (Araçá verdadeiro). **Scientific Electronic Archives**, v. 14, n.8, p.1-4, 2021.

SOARES-SILVA, L. H.; PROENÇA, C. E. B. A new species of *Psidium* L. (Myrtaceae) from southern Brazil. ***Botanical Journal of the Linnean Society***, v.158, n.1, p. 51-54, 2008.

SOARES, D. M.; LIMA, S.; EDELTRUDES, O. Candidíase vulvovaginal: Uma revisão de literatura com abordagem para Candida Albicans. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research - BJSCR**, v. 25, n.1, p.1-7, 2018.