

AValiação DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA PERESKIA ACULEATA MILLER FRENTE A CEPAS DE CANDIDA SPP. ISOLADAS DE PACIENTES HIV POSITIVOS

Kesley Pessoa De Sousa¹

Érika Helena Salles De Brito²

Alessandro Silva Ferreira³

Francisco Glauber Peixoto Ferreira⁴

Juliana Jales De Hollanda Celestino⁵

RESUMO

A candidíase caracteriza-se como uma síndrome clínica que tem como agente causador o fungo do gênero *Candida*, tendo 200 variedades de leveduras diferentes, nos mais diversos ambientes de nichos corporais, em que qualquer desequilíbrio, como por exemplo, uma condição de imunossupressão, como é o caso do HIV, pode fazer desse microrganismo um patógeno de risco para esses indivíduos. Em busca de novas drogas, o objetivo do presente estudo é avaliar se o extrato hidroalcoólico das folhas de *Pereskia aculeata* Miller promove atividade antifúngica em cepas de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. albicans* ATCC 90028, *C. parapsilosis* e *C. krusei* isoladas de pacientes HIV positivos. Para tanto, as folhas de *Pereskia aculeata* Miller foram coletadas no sítio da Biodiversidade, localizado na cidade de Mulungu-CE. Os extratos das folhas de *P. aculeata* Miller foram preparados com álcool 70% e água destilada em diferentes concentrações (0,5; 1,0; 5; 10 e 50 mg/mL). As cepas de *Candida*, oriundas da micoteca do Laboratório de Microbiologia da UNILAB, seriam semeadas em placas de microcultivo de 96 poços fundo U, contendo ágar Sabouraud. Seria feito o Teste de Suscetibilidade Antifúngica, por método de Microdiluição em Caldo, bem como a Determinação da Concentração Inibitória Mínima. Os dados seriam tabulados em Planilha Microsoft Office Excel 2013® para análise estatística os valores obtidos seriam expressos $\pm$ erro padrão médio, e para comparação entre as médias seria utilizada a análise de variância (ANOVA), com índice de significância de 5%. Esperava-se com esse estudo que o extrato hidroalcoólico das folhas de *Pereskia aculeata* Miller iniba o crescimento das cepas de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. albicans* ATCC 90028, *C. parapsilosis* e *C. krusei* isoladas de pacientes HIV positivos.

Palavras-chave: *Pereskia aculeata* Miller; *Candida* spp; Produtos naturais; Micologia.

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Ciências da Saúde, Discente, kesley.sousa3@hotmail.com¹

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Ciências da Saúde, Docente, erika@unilab.edu.br²

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Ciências da Saúde, Discente, silvaalesandro90@gmail.com³

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Ciências da Saúde, Discente, fgpf.glauber@hotmail.com⁴

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Ciências da Saúde, Docente, juliana.celestino@unilab.edu.br⁵

INTRODUÇÃO

A candidíase pode ser definida como uma patologia oportunista tendo como causa as leveduras de *Candida*, principalmente as espécies *Candida albicans* e *Candida não albicans*, como *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*; e a *C. dubliniensis* (QUINDÓS, 2002; SIDRIM & MOREIRA, 1999; WHITE et al., 2004 apud AVRELLA & GOULART, 2008).

Pacientes portadores do vírus HIV são sabidamente imunocomprometidos, e por isso, podem apresentar dificuldades para tratamento e cura de infecções causadas por cepas desse gênero de fungos, devido à resistência aos medicamentos e baixa disponibilidade de arsenal terapêutico para tratar as infecções nesse determinado grupo de pacientes.

Com isso, a busca por tratamentos alternativos e acessíveis se torna cada vez mais necessária para propiciar um tratamento mais efetivo e com maiores chances de sucesso na obtenção da cura. Assim, a utilização de plantas medicinais pode ser a saída para solucionar tal problemática, podendo citar como exemplo, a *Pereskia aculeata* Miller, popularmente conhecida como Ora-Pro-Nobis. É uma espécie nativa do Brasil sendo amplamente encontrada nas regiões Nordeste, Sudeste e Sul (CORDEIRO, s.d.).

Os extratos da planta em questão têm demonstrado possuir propriedades antimicrobianas satisfatórias com relação a algumas espécies de bactérias (ALMEIDA et al., 2008). Para fins antimicrobianos, a *P. aculeata* tem sido explorada de acordo com cada tipo de extrato. Especificamente, o extrato de éter de petróleo inibiu o crescimento de todas as cepas testadas e exibiu potente atividade contra *Escherichia coli*. Já o extrato de clorofórmio mostrou atividade inibitória contra os patógenos Gram-positivos, *Bacillus cereus* DSM 4313, *B. cereus* DSM 4384 e *Staphylococcus aureus*. Também se evidenciou atividades antimicrobiana utilizando a *P. aculeata* contra bactérias Gram-positivas (*B. cereus* e *S. aureus*) e Gramnegativas (*E. coli* e *P. aeruginosa*), o que pode indicar um valioso potencial em experimentos de caráter biológico (SARITHA et al., 2015).

No que tange a quatro cepas fúngicas, alguns extratos de *P. aculeata* apresentaram atividade antifúngica, sendo observada uma diferença de atividade, em que o uso do extrato de éter de petróleo e clorofórmio em baixas dosagens não fizeram com que as espécies *Penicillium expansum*, *P. citrinum* e *Aspergillus niger* fossem susceptíveis, já o extrato de metanol inibiu o crescimento de *Aspergillus versicolor* (SOUZA et al., 2016). Em complemento, um estudo mais recente realizado pela nossa equipe, ao testar o efeito do extrato hidroalcoólico da *P. aculeata* Miller, verificou-se atividade antifúngica contra todas as cepas testadas, incluindo *Candida albicans* e *Candida tropicalis* oriundas da cavidade oral de pessoas não portadoras de HIV, bem como em *Candida albicans* ATCC 90028, espécie padronizada em laboratório e com característica importante de resistência (FERREIRA et al., 2020). Entretanto, ainda não se sabe se a utilização do extrato hidroalcoólico produzido a partir das folhas de *Pereskia aculeata* Miller promove algum efeito antifúngico em cepas de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. albicans* ATCC 90028, *C. parapsilosis* e *C. krusei* isoladas de pacientes HIV positivos.

O presente trabalho tem como objetivo avaliar se o extrato hidroalcoólico das folhas de *Pereskia aculeata* Miller promove efeito antifúngico em cepas de *Candida spp.* com origem de pacientes HIV positivos.

METODOLOGIA

As folhas de *Pereskia aculeata* Miller foram coletadas no sítio da Biodiversidade, localizado na cidade de Mulungu-CE e armazenadas em sala fria até a preparação do extrato. A produção do extrato hidroalcoólico,

desempenha a mesma metodologia de produção utilizada por (GARCIA et al., 2019), seguindo uma proporção de 1 g de folha para cada 20 mL de etanol 70%.

As folhas foram descongeladas e selecionadas para desinfecção com água e hipoclorito de sódio. Seguidamente, foram secadas em estufa a uma temperatura de 60 °C até que obtivessem um aspecto quebradiço, 50g de folhas foram pesadas e trituradas e então foram acondicionadas em dois béqueres e acrescidas de álcool 70%, e seguiu para agitação magnética por seis horas.

Seguido da agitação a solução obtida foi acondicionada em tubos falcon de 50 mL cada e seguiram para a centrifugação refrigerada por 30 minutos, finalizada foi retirado o sobrenadante e transferido para dois béqueres, o precipitado foi descartado. Os béqueres foram colocados sob uma chapa aquecedora para evaporação de 70% do volume levando aproximadamente 4 horas. Após a evaporação a solução resultante foi acondicionada em tubos falcon e armazenada em um ultracongelador a -80 °C.

Após o congelamento, a solução foi submetida ao liofilizador para retirar a maioria da água presente, sem a perda de suas propriedades e possibilitando o seu armazenamento por um período maior de tempo. O procedimento de liofilização durou 3 dias, e o extrato foi finalizado.

Posteriormente, as cepas de *Candida*, oriundas da micoteca do Laboratório de Microbiologia da UNILAB, seriam semeadas em placas de microcultivo de 96 poços fundo U, contendo ágar Sabouraud. Seria feito o Teste de Suscetibilidade Antifúngica, por método de Microdiluição em Caldo, bem como a Determinação da Concentração Inibitória Mínima. Os dados seriam tabulados em Planilha Microsoft Office Excel 2013® para análise estatística e os valores obtidos seriam expressos $\pm$ erro padrão médio, e para comparação entre as médias seria utilizada a análise de variância (ANOVA), com índice de significância de 0,055%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As atividades desempenhadas durante a pesquisa consistiram em revisões bibliográficas, treinamentos para execução das metodologias e seguiram desde a coleta da planta à produção do extrato hidroalcoólico.

Com o desenvolvimento das atividades do projeto de pesquisa seguindo o plano de trabalho até a finalização das atividades do projeto, não foi possível apresentar resultados dos efeitos biológicos, já que apenas a partir do sexto mês do cronograma da pesquisa é que seria iniciada a parte de teste de atividade antifúngica por método de Microdiluição em Caldo, para depois o teste da determinação da concentração inibitória mínima e leitura das placas de microdiluição, para então realizar a organização dos dados e posteriormente trabalhar a análise estatística. Entretanto, com a finalização antecipada por necessidade de cancelamento do projeto, tais etapas não foram executadas pelo até então bolsista responsável, e não puderam gerar resultados para divulgação.

Revisões bibliográficas foram realizadas durante toda a execução do projeto a fim de atualização e aprimoramento dos conhecimentos relativos à pesquisa por buscas em banco de dados de artigos científicos a partir das palavras-chaves para orientar e selecionar os artigos para leitura e posterior discussão (por exemplo, PubMed, LILACS, SciELO e outros), busca em livros didáticos da área, e de busca por protocolos para testes microbiológicos embasados, seja em instituições credenciadoras nacionais ou internacionais que realizam a condução desse tipo de ensaio. Os artigos selecionados eram lidos e fichados para facilitar e

propiciar a discussão com os demais membros do projeto, a troca de conhecimento e incentivar a cooperação.

Os treinamentos, rotineiramente realizados, visaram propiciar uma melhor capacidade de execução das atividades propostas pela pesquisa e para busca de uma produção científica satisfatória e de qualidade. O extrato hidroalcoólico seguiu os passos adequados em consonância com a prática já realizada em produções de extratos vegetais realizadas em laboratórios de bioquímica e farmacognosia. Também foi propiciado treinamento relacionado ao protocolo experimental de microbiologia, para atender as normas e diretrizes que regulamentam esse tipo de pesquisa. Esses treinamentos foram executados pela própria equipe executora do projeto, em conformidade às práticas vivenciadas nos laboratórios da UNILAB.

CONCLUSÕES

Diante do exposto, o presente projeto buscava evidenciar se a planta *Pereskia aculeata* Miller possuía atividade antifúngica capaz de inibir o crescimento de cepas do gênero *Candida* proveniente de pacientes HIV positivos e assim propiciar uma alternativa terapêutica, já que se é sabido que essa família de fungos apresenta resistência as formas de tratamento já utilizadas atualmente em pessoas imunossuprimidas. Entretanto, devido ao cancelamento do projeto de iniciação científica antes das etapas de teste de atividade antifúngica, não foi possível afirmar se a *Pereskia aculeata* Miller possuía de fato atividade inibitória para as cepas de *Candida* que viriam a ser testadas.

Sob este viés, nota-se a extrema importância do trabalho para que possa fomentar parcerias mais efetivas entre o saber popular e o saber científico, já que as populações acabam por utilizar tais plantas para determinados fins e cabe a universidade como formadora de conhecimento científico e de pesquisa propiciar a comprovação de efetividade para uso, logo, fortalecendo os laços entre a UNILAB e a comunidade ao seu entorno e todo o Maciço de Baturité.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP, pelo auxílio na forma de concessão de bolsa de iniciação científica.

Ao Sr. Wagner, do sítio Vale da Biodiversidade, pelo apoio na disponibilização da planta.

Às orientadoras Professora Dra. Juliana Jales de Holanda Celestino e Professora Dra. Érika Helena Salles de Brito.

À UNILAB, ao Laboratório de Microbiologia e de Fisiologia Vegetal por permitirem a realização do projeto e aos colaboradores Alessandro, mestrando Glauber e Dra. Talita Magalhães.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, P. L.; NAGHETINI, C. C.; NUNAM, E. A.; JUNQUEIRA, R. G.; GLÓRIA, M. B. A. **Atividade antimicrobiana in vitro do rizoma em pó, dos pigmentos curcuminóides e dos óleos essenciais da *Curcuma longa* L.** Ciência e Agrotecnologia, v.32, n.3, p.875-881, 2008.

AVRELLA, D.; GOULART, L. S. **Isolamento de *Candida* spp. da mucosa oral de pacientes submetidos**

ao tratamento quimioterápico. Revista Brasileira de Análises Clínicas, v.40, p. 205-207. 2008.

CORDEIRO, Sandra Zorat. **Pereskia aculeata** Mill. Universidade Federal do Rio de Janeiro - Herbário. Disponível em: <http://www.unirio.br/ccbs/ibio/herbariohuni/pereskia-aculeata-mill>. Acesso em: 25 mar. 2022.

FERREIRA, F. G. P.; CRUZ, G. S.; COSTA, H. P.; MEIRÚ, M. I. L.; FERREIRA, M. N. A.; VALLE, C. P.; FONSECA, A. M.; LEITE, A. C. R. M.; BRITO, E. H. S.; CELESTINO, J. J. H. **Evaluation of antifungal activity of the hydroalcoholic extract of *Pereskia aculeata* Miller leaves in *Candida spp.*** International Journal of Development Research. v.10. n.4. p.35195-35199, 2020.

GARCIA, Jéssica A.A.; CORRÊA, Rúbia C.G.; BARROS, Lillian; PEREIRA, Carla; ABREU, Rui M.V.; ALVES, Maria José; CALHELHA, Ricardo C.; BRACHT, Adelar; PERALTA, Rosane M.; FERREIRA, Isabel C.F.R.. **Phytochemical profile and biological activities of 'Ora-pro-nobis' leaves (*Pereskia aculeata* Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest.** Food Chemistry, [S.L.], v. 294, p. 302-308, out. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.074>.

QUINDÓS, G. **Las micosis en el amanecer del siglo XXI.** Rev. Iber. Micol., v.9, p.1-4. 2002.

SARITHA, K.; RAJESH, A.; MANJULATHA, K.; SETTY, OH; YENUGU, S. **Mecanismo de ação antibacteriana dos extratos alcoólicos de *Hemidesmus indicus* (L.) R. Br. ex Schult, *Leucas aspera* (Wild.), *Plumbago zeylanica* L. e *Tridax procumbens* (L.) R. Br. ex Schult.** Frente. Microbiol, v.6, p.1-9, 2015.

SIDRIM, J. J. C.; MOREIRA, J. L. B. **Fundamentos clínicos laboratoriais da micologia médica.** Guanabara Koogan. 1999.

SOUZA, L. F.; CAPUTO, L.; DE BARROS I. B. I.; FRATIANNI, F.; NAZZARO, F.; DE FEO, V. ***Pereskia aculeata* Muller (Cactaceae) Leaves: Chemical Composition and Biological Activities.** Int. J. Mol. Sci, v.17, p.1478, 2016.