

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA IN VITRO DA CASCA DO ANACARDIUM OCCIDENTALE LINN. SOBRE LEVEDURAS DO GÊNERO CANDIDA

IN VITRO ANTIFUNGAL ACTIVITY OF ANACARDIUM OCCIDENTALE LINN. BARK UPON LEAVENS OF THE CANDIDA GENDER

Cristina Ruan Ferreira Araújo¹
Maria do Socorro Vieira Pereira²
Jane Sheila Higino³
Jozinete Vieira Pereira⁴
Amely Branquinho Martins⁵

RESUMO

Os fungos fazem parte da microbiota normal da boca e variações qualitativas e quantitativas destes são encontrados em indivíduos saudáveis. A candidose é uma infecção endógena de ocorrência bastante comum na cavidade bucal provocada por parasitismo ocasional desenvolvido por leveduras do gênero *Candida*. A utilização das plantas pela medicina popular, seu uso na odontologia e a divulgação dos êxitos conduziram a exploração científica, proporcionando um conhecimento químico-farmacológico de milhares de plantas. O *Anacardium occidentale* Linn. (cajueiro) tem diversas aplicações terapêuticas, além de atividade antimicrobiana sobre vários microrganismos. A presente pesquisa teve por objetivos avaliar a atividade antifúngica, in vitro, do extrato da casca do *Anacardium occidentale* Linn. sobre as leveduras *Candida albicans*, *C. stellatoidea*, *C. Krusei* e *C. tropicalis* em estudo comparativo com o gluconato de clorexidina a 0,12%. Os ensaios foram realizados pela técnica de difusão em agar para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). O extrato da casca do cajueiro apresentou potencial atividade antifúngica sobre *C. tropicalis* e *C. stellatoidea*, e o gluconato de clorexidina apresentou atividade antifúngica para todas as leveduras ensaiadas. Os valores das CIMs para o extrato do cajueiro foram de 1:8 com halos de inibição que variaram de 12 a 18 mm e para clorexidina foi de 1:16 com halos de inibição que variaram de 11 a 22mm. Os resultados demonstram a importância de se estudar novos meios alternativos e de baixo custo e sugerem a utilização terapêutica do extrato do cajueiro como agente antifúngico na odontologia.

Palavras-chave: *cândida*, *anacardium occidentale* linn., *clorexidina*

INTRODUÇÃO

A candidose é uma infecção endógena de ocorrência bastante comum na cavidade bucal provocada por parasitismo ocasional, desenvolvido por leveduras do gênero *Cândida*^{1,2}. A *Cândida albicans* é a espécie mais importante do ponto de vista etiológico, e é, normalmente, o comensal mais encontrado na cavidade bucal de indivíduos sadios em porcentagens que variam de 33% a 60%³.

¹ Mestranda em Diagnóstico Bucal pela UFPB; ² Professora Adjunta do Departamento de Biologia Molecular da UFPB; ³ Professora Adjunta do Departamento de Farmácia da UFPE ⁴ Professora Titular do Departamento de Odontologia da UEPB; ⁵ Graduanda do curso de Biologia da UFPB.

De forma convencional, o tratamento da candidose consiste na utilização de agentes antifúngicos de uso tópico ou sistêmico, sendo os derivados azólicos e poliênicos os mais comuns. Assim no grupo dos compostos derivados poliênicos destacam-se a nistatina e a anfotericina B, enquanto que no grupo dos compostos azólicos os mais usados são miconazol, cetoconazol, e, mais recentemente, os triazólicos: fluconazol e itraconazol⁴. No entanto, a terapêutica bem sucedida está relacionada às observações clínicas e estado geral do paciente⁵. A possibilidade de efeitos tóxicos ocasionados, geralmente pelas drogas de uso sistêmico também deve ser considerada, principalmente na terapêutica de pacientes imunodeprimidos⁶. É nesse contexto que surge como coadjuvante a clorexidina, pois além de apresentar ação sobre leveduras do gênero *Candida*, ela em baixas concentrações apresenta uma alta substantividade e mínima absorção gastrointestinal⁷.

Diante desta problemática, vários pesquisadores têm intensificado seus estudos no campo da medicina alternativa, e principalmente a fitoterapia, pois a mesma além de apresentar um fácil acesso a população, em inúmeros experimentos comprovou-se a sua eficácia quando comparada a alopatria, sobrepondo-se a esta com relação aos efeitos colaterais.

O uso de plantas medicinais no Brasil é bastante difundido, sendo que, na maioria dos casos, é feito de modo empírico, sem conhecimento do verdadeiro potencial terapêutico. A utilização da Fitoterapia deve ser avaliada através da separação dos princípios ativos e posterior verificação de suas propriedades farmacológicas⁹.

O *Anacardium occidentale* Linn. (cajueiro) tem apresentado em pesquisas ação antimicrobiana sobre as afecções bucais, sendo este, depois da acerola maior fonte de vitamina C¹⁰.

Sendo a candidose bucal uma patologia de elevada frequência e importância clínica; a busca por recursos alternativos já é uma realidade, visto as vantagens expostas, justifica-se portanto a necessidade de se estudar a ação de fitoterápicos sobre leveduras do gênero *Candida* uma vez que o *Anacardium occidentale* Linn.(cajueiro) é uma planta largamente encontrada na região Nordeste, e comumente utilizada pela população.

MATERIAL E MÉTODO

Material Botânico

O extrato foi obtido a partir do caule do cajueiro (*Anacardium occidentale* Linn.), identificada botanicamente

pelo prof.Dr. Ulysses Paulino de Albuquerque, do departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Os frutos foram lavados com água e posteriormente separados em casca e mesocarpo, sendo a casca e o fruto o material para obtenção dos extratos, utilizados nos experimentos que foram realizados no Laboratório de Genética dos Microrganismos – Departamento de Biologia Molecular do Centro de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade Federal da Paraíba.

Leveduras utilizadas

Foram utilizadas no presente trabalho leveduras de *Candida albicans*: cepa nº 39, *Candida tropicalis*: cepa nº 13, *Candida Stellatoidea*: cepa nº 22 e *Candida Krusei* nº 7.

Determinação da Atividade Antifúngica do Extrato de *Anacardium occidentale* Linn.

A atividade antifúngica em placas foi determinada pelo método de difusão em meio sólido para o *screening* e para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. sobre as leveduras do gênero *Candida*. As leveduras foram cultivadas em caldo nutritivo (BHI – Brain Heart Infusion – DIFCO); incubadas a 37°C por 18-20 horas em microaerofilia. Foram realizadas perfurações no meio de cultura (ágar sabouraud dextrose a 2%– DIFCO) de aproximadamente 6mm de diâmetro. Nos orifícios foram colocados um volume de 50ml da solução do extrato diluída, variando de 1:1 a 1:512. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C, por um período de 24 horas. Foram realizados estudos comparativos com o gluconato de clorexidina; os ensaios foram realizados em duplicata frente a cada levedura ensaiada para confirmação dos resultados. A CIM foi considerada a menor concentração das substâncias que inibiu completamente o crescimento fúngico, ou seja presença do halo de inibição.

RESULTADOS

No presente estudo a *Candida tropicalis* e a *Candida stellatoidea* foram susceptíveis a ação do extrato do caule *Anacardium occidentale* Linn., observando-se halos de inibição que variaram de 17 a 12 mm, 18 a 12 mm, respectivamente. A inibição do crescimento apresentou-se homogênea, de acordo com o grau de concentração do extrato da planta em estudo. Houve uma diminuição

proporcional do diâmetro dos halos a medida que concentração do extrato foi diminuída, conforme apresentado na tabela 1 e figura 1.

Tabela 1. Concentração Inibitória Mínima em meio sólido do extrato de *Anacardium occidentale linn.*, sobre leveduras do gênero *Cândida*

Leveduras do gênero <i>Candida</i>	Diâmetro dos halos de Inibição (mm):Concentração do Extrato (mg/ml)									
	EP	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
<i>Candida albicans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Candida tropicalis</i>	17	14	12	0	0	0	0	0	0	0
<i>Candida stellatóidea</i>	18	15	14	12	0	0	0	0	0	0
<i>Candida krusei</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

EP-EXTRATO PURO

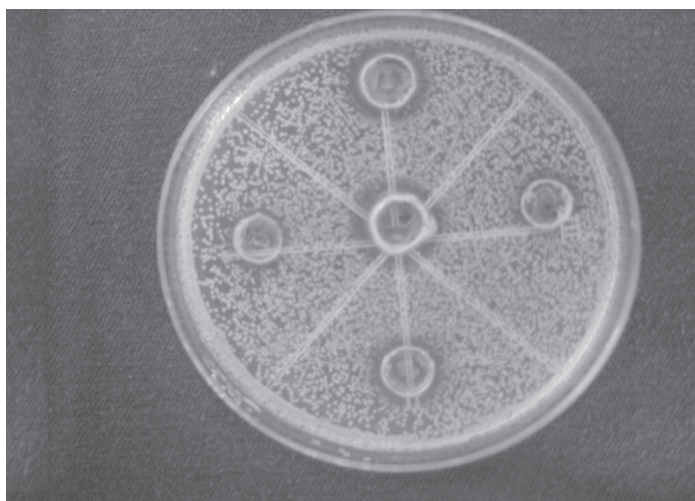


Figura 1. Concentração Inibitória Mínima do extrato de *Anacardium occidentale Linn.*, sobre *Candida tropicalis*.

Com relação a clorexidina observamos resultados semelhantes com uma proporcionalidade entre diminuição do diâmetro dos halos de inibição e a diminuição da concentração da substância (tabela 2).

Tabela 2. Concentração Inibitória Mínima em meio sólido da clorexidina, sobre leveduras do gênero *Cândida*

Leveduras do gênero <i>Candida</i>	Diâmetro dos halos de Inibição (mm): Concentração do Extrato (mg/ml)									
	EP	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
<i>Candida albicans</i>	17	15	14	12	11	0	0	0	0	0
<i>Candida tropicalis</i>	17	16	14	13	12	0	0	0	0	0
<i>Candida stellatóidea</i>	22	20	18	15	13	0	0	0	0	0
<i>Candida krusei</i>	21	18	15	14	0	0	0	0	0	0

EP-EXTRATO PURO

DISCUSSÃO

As doenças infecciosas apresentam grande importância em nosso meio e suas manifestações bucais têm merecido muita atenção, não só no que se refere ao seu diagnóstico, como também ao tratamento e prevenção. A preocupação com as doenças bacterianas, fúngicas ou viróticas, tem sido enfrentado como maior problema para saúde pública no Brasil pelos profissionais de saúde, principalmente depois do advento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), por estes microrganismos terem apresentado maior resistência aos medicamentos convencionais utilizados em seu tratamento¹¹.

A *Candida albicans* tem um importante papel no desencadeamento de infecções bucais, porém espécies consideradas patogênicas como *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. lusitanae* entre outras têm sido detectadas em casos de candidíase bucal, principalmente naqueles relacionados à imunossupressão¹².

Lima, Figueredo e Sampaio (1994)¹³ evidenciaram que em nosso meio o isolamento de culturas positivas da cavidade bucal associados ou não a lesões, estas são em sua maioria de *C. albicans*, seguida de *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *T. glabrata*.

Ao extrato do *Anacardium occidentale* Linn, conhecido como cajueiro, são atribuídas diversas propriedades farmacológicas, tais como: antitussígeno, antissifilítico, diurética e cicatrizante. Estudos sobre o efeito antiinflamatório do extrato da casca do cajueiro foram atribuídos a presença de taninos (polifenóis), que demonstraram atividade em ambos os modelos de

inflamação aguda e crônica¹⁴. O *screening* para atividade antibacteriana de várias plantas medicinais foi realizado na Nigéria, e o extrato da folha e casca do *Anacardium occidentale* Linn mostrou boa atividade sobre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e bactérias Gram negativas¹⁵.

O extrato da casca do *Anacardium Occidentale* Linn. apresentou atividade antifúngica sobre *C. tropicalis* e *C. stellatóidea*, apresentando halos de inibição que variaram de 12 a 18 mm (tabela 1/figura 1).

Estudando a ação antimicrobiana do extrato da casca do *Anacardium occidentale* Linn. Akinpelu (2001)¹⁶ observou que o mesmo apresentou excelentes resultados com bactérias resistentes a antibióticos, dentre elas *A. k. pneumoniae* que é resistente a estreptomicina, porém não apresentou atividade sobre a *Candida albicans* testada. Em nossa pesquisa o extrato da casca do cajueiro também não apresentou ação antifúngica sobre *C. albicans*. Assim como sobre *C. krusei*, de maneira semelhante ao trabalho de Queiroz (1998)¹⁷ que utilizou o extrato solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO) da casca do *Anacardium occidentale* Linn. numa proporção de até 4% em concentrações variáveis de 5.000 a 156 mg/ml sobre leveduras do gênero *Candida*, não encontrando atividade antifúngica sobre *C. krusei* e *C. tropicalis*, como também para a cepa 46 da *C. stellatóidea*.

Lima, Pastore e Lima¹⁸ estudaram a atividade antimicrobiana dos ácidos anacárdicos do óleo da casca da castanha do *Anacardium occidentale* Linn. sobre microrganismos da cavidade bucal como: *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Candida utilis*, os ácidos anacárdicos apresentaram fraca inibição no crescimento das leveduras.

A clorexidina é disponível na forma de gluconato, acetato ou digluconato, sendo este o mais indicado. Sua indicação é maior por apresentar maior solubilidade em água e por dissociar-se em PH fisiológico liberando o componente catiônico¹⁹.

Todas as leveduras ensaiadas apresentaram-se sensíveis ao gluconato de clorexidina a 0,12%, atividade antifúngica demonstrada até a diluição 1:16 (tabela 2).

Recentemente o grande desafio é encontrar um agente antifúngico que realmente trate a candidose oral, pois além da frequência dessa patologia com o advento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), temos a seleção de cepas. O seu tratamento é difícil na cavidade oral, pois devido a sua própria estrutura o medicamento não consegue permanecer tempo suficiente na boca, por conta do fluxo salivar, dos movimentos da musculatura oral. É por esta razão que estudos vêm sendo realizados para que se encontre uma substância realmente capaz de permanecer

na boca e tratar tal patologia , assim afirma Ellepola e Samaranayke²⁰ que a clorexidina tem eficácia comprovada como um suplemento do agente antifúngico no tratamento da candidose oral, pois além de atuar sobre a *Candida*, ela apresenta uma substantividade que dependendo do paciente, ela pode apresentar ação durante horas.

A fitoterapia embora seja um tema recente para a odontologia, paradoxalmente suas raízes são bem profundas e antigas. Muitas das plantas de uso já comprovado pela farmacologia e medicina podem ser indicadas para fins odontológicos²¹.

CONCLUSÕES

- O extrato da casca do *Anacardium occidentale* Linn. apresentou significativa ação antifúngica sobre a *C. tropicalis* e a *C. stellatoidea*.

- A clorexidina mostrou efetiva atividade antifúngica sobre todas as cepas .

- Tendo-se consciência da real situação financeira da maioria da população brasileira, do aparecimento e aumento da incidência de várias espécies de *Candidas* e a resistência das mesmas à terapêutica convencional é que estudos com terapias viáveis, de baixo custo e com a mesma eficácia da alopatia tornam-se muito importante na área de saúde.

- Os resultados demonstram a importância de se estudar novos meios alternativos e de baixo custo e sugerem a utilização terapêutica do extrato do cajueiro como agente antifúngico na odontologia.

ABSTRACT

Fungi are part of the normal microbiota of the mouth and qualitative and quantitative variations of these are found in healthy individuals. Candidosis is an endogenous infection frequently found in the oral cavity. It is caused by occasional parasitic developed by yeasts of the Candida genus. The use of plants by popular medicine, their use in dentistry and the divulgation of success conducted the scientific exploration, providing a pharmacological-chemical knowledge of various plants. The Anacardium occidentale Linn. (known as "cajueiro"), has several therapeutic applications, as well as anti-microbe activity upon various microorganisms. The aim of this study was to evaluate the antifungal activity in vitro of extract cashew's bark upon yeasts of Candida albicans, C. stellatoidea, C. krusei and C. tropicalis in a comparative study with chlorhexidine (0,12%). The tests were done by the diffusion method in agar for the determination of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC). The extract of cashew's bark showed potential antifungal activity upon C. Tropicalis and C. stellatoidea, and the chlorhexidine showed antifungal activity for every yeasts analyzed. The MICs values for cashew's extract were 1:8 with inhibition halos varying from 12 to 18mm, and for the chlorhexidine were 1:16 with inhibition halos from 11 to 22mm. The results showed the importance of studying new alternative ways and with lower cost, and it also suggests the therapeutic use of cashew's extract as antifungal agent in dentistry.

Key words: *Candida, Phytotherapy, chlorhexidine*

REFERÊNCIAS

- 1 Anselmi AL, Garcia EG. Consideraciones em el tratamiento de la candidiasis bucal. Acta Odont Venez. 1992;12:11-4
- 2 Fonseca JB. Fungos em odontologia. In: LACAZ CS, MINAMI PS, PURCHIO A. O grande mundo dos fungos. São Paulo: Ed.USP, 1970: 177-84.
- 3 Jorge AOC, Koga-Ito CY, Gonçalves CR et al. Presença de leveduras do gênero *Cândida* na saliva de pacientes com diferentes fatores predisponentes e de indivíduos controle. Rev. Odontol. Univ São Paulo 1997; 4: 279-85
- 4 Costa LJ. Suscetibilidade de cepas de *Cândida albicans* isoladas da boca de pacientes com AIDS ou câncer a drogas antifúngicas (Tese) São Paulo, Faculdade de Odontologia da USP, 1996.
- 5 Martins JEC, Lacaz CS. Terapêutica das candidíases. In: Lacaz CS. Candidíases. São Paulo: USP, 1980: 178-89.
- 6 Laguna F, Valencia E, Polo R et al. Ineficácia da anfotericina B oral em el tratamiento de la candidiasis orofaríngea resistente a fluconazol en pacientes VIH-positivos. Rev. Clin Esp. dic. 1996; 12: 878-9
- 7 Ellepola ANB, Samaranayake LP. Adjunctive use of chlorhexidine in oral candidoses: a review. Oral diseases 2001; 7: 11-7
- 8 Dnunes DA, Araújo-filho R, Lima RSN, Correia ACC. A utilização de agentes fitoterápicos em Odontologia. Revista da Faculdade de Odontologia da UFBA jan./jun. 1999; 18: 11-4
- 9 Pereira JV. Atividade antimicrobiana do extrato hidroalcólico da *Punica granatum Linn.* sobre microrganismos formadores de placa bacteriana. (Dissertação), João Pessoa, Universidade Federal Paraíba, 1998
- 10 Silva EP. A saúde e a cura pela natureza, 2. ed. João Pessoa: União, 2002: 121-22.
- 11 Tommasi AF. Diagnóstico em patologia bucal. 3.ed. Pancast. 2002. 600p.
- 12 Anaissie E. Opportunistic mycoses in the immunocompromised host: Experience at a cancer center and review. CID. 1992; 14: 43-53.
- 13 Lima EO, Figueredo RB, Sampaio MCC et al. Isolamento e identificação de leveduras da cavidade bucal. CCS, abr/jun. 1994, 2: 61-3
- 14 Mota MLR. Estudos antiinflamatório e análise química da casca do *Anacardium occidentale Linn.* (Dissertação), 1982, João Pessoa, Universidade Federal Paraíba, 188p.
- 15 Kudi AC, Umoh JU, Eduvie LO, Gefu J. Screening of some Nigerian medicinal plants for antibacterial activity. Journal of Ethnopharmacology, 1999; 67: 225-8.
- 16 Akinpelu DA. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* bark. Fitoterapia, 2001; 72: 286-7
- 17 Queiroz MVF. Atividade antifúngica in vitro de plantas medicinais frente a leveduras do gênero *Cândida* isoladas da cavidade bucal (Dissertação), João Pessoa, Universidade Federal da Paraíba, 1998.
- 18 Lima CAA, Pastore GM, Lima EDPA. Estudo da atividade antimicrobiana dos ácidos anacárdicos do óleo da casca da castanha de caju (CNSL) dos clones de cajueiro-anão-precoce CCP-76 e CCP-09 em cinco estágios de maturação sobre microrganismos da cavidade bucal. Ciênc. Tecnol. Aliment., 2000; 3: 1-10
- 19 Moreira NA, Ferreira RC, Vieira PA, Valadares HAC. Agentes antimicrobianos no controle da placa supragengival Parte I. Arquivos em Odontologia, 2001, Belo Horizonte; 2: 101-14
- 20 Ellepola ANB, Samaranayake LP. Adjunctive use of chlorhexidine in oral candidoses: a review. Oral Diseases. 2001; 7: 11-7
- 21 Sampaio FC. Fitoterapia em odontologia. In: Memento fitoterápico. As plantas como alternativa terapêutica: conhecimentos populares e científicos. João Pessoa. Editora Universitária - UFPB, 1997, 202p.