

Universidade Camilo Castelo Branco
Campus de Fernandópolis

JUSSARA BRITTO BATISTA GONÇALVES

EFICÁCIA DE PLANTAS MEDICINAIS NO CONTROLE IN VITRO DE
CANDIDA ALBICANS

MEDICINAL PLANTS IN EFFECTIVE CONTROL IN VITRO CANDIDA ALBICANS

Fernandópolis, SP

2015

Jussara Britto Batista Gonçalves

EFICÁCIA DE PLANTAS MEDICINAIS NO CONTROLE IN VITRO DE *CANDIDA*
ALBICANS

Orientador: Prof. Dr. Roberto Andreani Junior
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Dora Inés Kozusny-Andreani

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Camilo Castelo Branco, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Fernandópolis, SP

2015

FICHA CATALOGRAFICA

GONÇALVES, Jussara Britto Batista

G624E Eficácia de Plantas Medicinais no Controle *In Vitro de Candida Albicans* / Jussara Britto Batista Gonçalves - São José dos Campos: SP / UNICASTELO, 2015.

42f. il.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Andreani Junior

Co – Orientador: Prof.^a Dr.^a Dora Inês Kozusny-Andreani

Dissertação de Mestrado apresentada no Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Camilo Castelo Branco, para complementação dos créditos para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

1. Fitoterápico. 2. Levedura. 3. Saúde. 4. Meio Ambiente.

I. Título

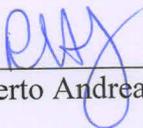
CDD: 574

TERMO DE APROVAÇÃO

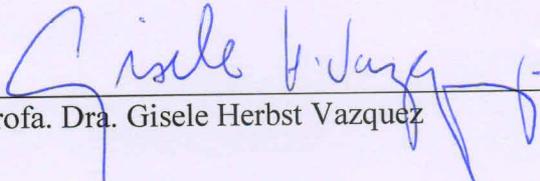
JUSSARA BRITTO BATISTA GONÇALVES

EFICÁCIA DE PLANTAS MEDICINAIS NO CONTROLE IN VITRO DE CANDIDA ALBICANS.

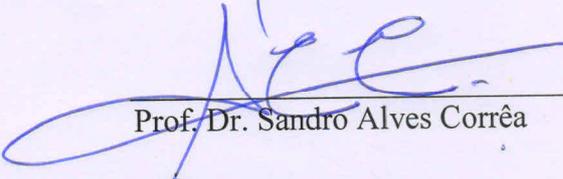
Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Camilo Castelo Branco, pela seguinte banca examinadora:



Prof. Dr. Roberto Andreani Junior
(Presidente)



Prof. Dra. Gisele Herbst Vazquez



Prof. Dr. Sandro Alves Corrêa

Fernandópolis - SP, 12 de março de 2015.

Presidente da Banca Prof. Dr. Roberto Andreani Junior

Campus • São Paulo

Rua Carolina Fonseca, 584 - Itaquera
CEP: 08230-030 - São Paulo - SP.
Fone: 11 2070.0000
email: unicastelo@unicastelo.br

Campus • Fernandópolis

Est. Projetada F-1, s/n - Fazenda Santa Rita
CEP: 15600-000 - Fernandópolis - SP.
Fone: 17 3465.4200
email: unicasteloc7@unicastelo.br

Campus • Descalvado

R. Hilário da Silva Passos, 950 - Parque Universitário
CEP: 13690-970 - Descalvado - SP.
Fone: 19 3593.8500
email: unicasteloc8@unicastelo.br

DEDICATÓRIA

Dedico a Deus que por seu imenso amor, esteve comigo em todo momento. Ao meu esposo e amigo (Carlos Alberto), aos meus filhos (Dayane, Carlos Junior e Vinicius), pelo apoio e paciência.

AGRADECIMENTOS

A Deus que por sua infinita misericórdia me sustentou na realização de mais uma etapa na minha vida profissional, nas horas de desânimo tem me sustentado e me dado forças, nas angústias tem me confortado, e ao final tem me dado vitória.

A Professora Doutora Dora Inês Kozusny-Andreani, que com seu grande conhecimento, compreensão e boa vontade aceitou ser co-orientadora deste trabalho. Não somente sua competência, mas também sua figura humana, muito contribuiu na realização deste trabalho.

Ao Professor Doutor Roberto Andreani Junior, pela compreensão, paciência e incentivo, sempre pronto e atencioso tornando o fardo mais leve.

Ao Coordenador do curso Professor Doutor Sergio Vanzela, sempre presente quando precisei, pessoa muito humana e respeitosa.

A todos os funcionários do laboratório de biotecnologia, que de maneira direta e indireta muito contribuíram na realização desta pesquisa. Especialmente minha irmã e amiga Selma Bernardo que me ajudou em cada etapa, que Deus te abençoe sempre.

EFICÁCIA DE PLANTAS MEDICINAIS NO CONTROLE IN VITRO DE *CANDIDA ALBICANS*

RESUMO

A *Candida albicans* é uma levedura presente na microbiota humana considerada como um patógeno oportunista, que em ocasiões de baixa resistência pode invadir tecidos, órgãos e até provocar quadros sistêmicos. A resistência de *C. albicans* aos fármacos antifúngicos vem causando quadros de recidivas, tornando necessária a busca de alternativas terapêuticas como o uso dos fitoterápicos. O objetivo deste estudo foi o de avaliar o efeito de plantas medicinais sobre *Candida albicans*. Utilizaram-se infusões de *Cymbopogon citratus*; *Citrus limon*; *Eucalipitus citriodora*; *Caryophyllus aromaticus*, e *Origanum vulgare*. Para linhagem e preparação do inóculo, foi utilizada a linhagem padrão de *Candida albicans* ATCC25923 (American Type Culture Collection). O preparo do inóculo para os testes de susceptibilidade foram realizados pelo método de diluição em tubos, seguindo os protocolos do NCCLS (National Committee e for Clinical Laboratory Standards, 2004). Os resultados demonstram que todas as infusões apresentaram eficácia exercendo ação antifúngica sobre *Candida albicans*, cada uma em um tempo de exposição diferente.

Palavras-chave: Fitoterápico, Levedura, Saúde, Meio Ambiente.

MEDICINAL PLANTS IN EFFECTIVE CONTROL IN VITRO CANDIDA ALBICANS

ABSTRACT

Candida albicans is a yeast present in the human microbiota considered as an opportunistic pathogen that in times of low resistance can invade tissues, organs and even lead to systemic frames. The *C. albicans* resistance to antifungal drugs is causing frames of relapses, making it necessary to search for alternative therapies such as the use of herbal medicines. The objective of this study was to evaluate the effect of medicinal plants on *Candida albicans*. Infusions were used *Cymbopogon citratus*; *Citrus limon*; *Eucalipitus citriodora*; *Caryophyllus aromaticus*, *Origanum vulgare* and. For preparation of the inoculum strain and the standard strain of *Candida albicans* ATCC25923 (American Type Culture Collection) was used. Preparation of the inoculum for susceptibility testing was performed by the dilution method in tubes, following the protocol NCCLS (National Committee for Clinical and Laboratory Standards, 2004). The results demonstrate that all infusions showed efficacy exerting antifungal activity against *Candida albicans*, each at a different exposure time.

Keywords: Herbal Yeast Health, Environment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: <i>Cymbopogon citratus</i>	19
Figura 2: <i>Origanum vulgare</i>	20
Figura 3: <i>Citrus limon</i>	21
Figura 4: <i>Eucaliptus citriodora</i>	21
Figura 5: <i>Caryophyllus aromaticus</i>	22
Figura 6: Microtubos em triplicata contendo: infusão, C.albicans, TSB (meio de cultura).	26
Figura 8: Avaliação do crescimento fúngico em relação ao tempo (Placas de Petri em triplicata).....	29
Figura 9: Comportamento do percentual da redução microbiana ao longo dos tempos avaliados	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM) de infusões sobre <i>Candida albicans</i>	30
Tabela 2: Contagem de <i>Candida albicans</i> em relação aos tempos de exposição do microrganismo à infusão	31
Tabela 3: Medianas dos percentuais de redução da contagem microbiana de <i>C. albicans</i> para cada planta medicinal	32

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVO.....	14
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1. Plantas medicinais e saúde humana	15
3.2. Políticas Públicas e plantas medicinais.....	17
3.3. Plantas utilizadas na pesquisa	18
3.3.1. <i>Cymbopogon citratus</i> (capim limão)	18
3.3.2. <i>Origanum vulgare</i> (orégano)	19
3.3.3. <i>Citrus limon</i> (limão).....	20
3.3.4. <i>Eucalyptus citriodora</i> (Eucalipto)	21
3.3.5. <i>Caryophyllus aromaticus</i> (Cravo da Índia).....	21
3.4. Fungos e Leveduras.....	22
3.5. <i>Candida albicans</i>	23
4. MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1. Linhagem e preparação do inóculo	25
4.2. Material botânico	25
4.3. Preparo das infusões.....	25
4.4. Determinação da concentração inibitória mínima.....	26
4.5. Determinação da concentração fungicida mínima.....	28
4.6. Análise estatística.....	29
5. RESULTADOS	30
6. DISCUSSÃO	35
7. CONCLUSÃO.....	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

1. INTRODUÇÃO

No campo da Saúde Coletiva, especificamente na área de saúde da mulher, o exame de *Papanicolaou* que tem como prioridade a detecção do câncer do colo uterino, serve também como instrumento de avaliação e diagnóstico das infecções mais comuns causadas por fungos e bactérias, alvo das queixas ginecológicas mais frequentes relatadas pelas mulheres possivelmente por causar sinais e sintomas desconfortáveis como prurido e leucorréia.

A *Candida albicans* é a espécie responsável pela maioria dos casos de candidíase vulvovaginal, causando prurido intenso, vermelhidão e corrimento caracterizado por secreção amarelada, espessa tipo queijo com odor de mofo ou nenhum odor. É comum em mulheres na fase reprodutiva pela maior produção de glicogênio sendo este um dos fatores predisponentes a infecção por *Cândida*, outros fatores incluem uso de contraceptivos orais e gestação. Diabetes e antibioticoterapia também são fatores predisponentes para *Candida albicans*. O tratamento inclui uso de drogas antifúngicas como clotrimazol, miconazol e fluconazol (TORTORA, 2008).

Dentre as infecções ginecológicas mais comuns encontradas nos resultados de exames citológicos de colo uterino, as queixas relatadas pelas pacientes decorrentes de candidíase são as mais freqüentes. Apesar das medidas preventivas de higiene íntima e pessoal fornecida pelos profissionais de saúde, outros fatores contribuem para o quadro de recidivas levando a automedicação desorientada e agravamento do problema. Algumas medidas alternativas para alívio e cura dos sintomas fazem parte das “receitas caseiras” divulgadas entre as mulheres como banhos de assentos com chás medicinais, vinagre branco entre outros.

Faz parte da cultura popular há séculos o uso das plantas medicinais, acompanhando a humanidade desde a sua concepção até os dias atuais. O conhecimento empírico sobre o uso das plantas medicinais é passado de geração em geração, e muitos desses conhecimentos encontram-se disponível atualmente. Em muitas comunidades e grupos étnicos o conhecimento sobre as plantas medicinais representa o único recurso terapêutico disponível para o tratamento ea cura das doenças (DI STASI, 1996).

O Ministério da Saúde incentiva as práticas populares e as medidas alternativas com o uso de fitoterápicos nas afecções mais comuns e ditas corriqueiras, desde que bem orientadas e usando a formulação adequada. Essas

medidas auxiliam nas práticas populares mantendo a cultura e preservando o saber popular, fato tão rico em nossa história, além de estar ao alcance da população principalmente daqueles mais carentes de recursos financeiros.

As plantas medicinais, que têm avaliada a sua eficiência terapêutica e a toxicologia ou segurança do uso, dentre outros aspectos, estão cientificamente aprovadas a serem utilizadas pela população nas suas necessidades básicas de saúde, em função da facilidade de acesso, do baixo custo e da compatibilidade cultural com as tradições populares. Uma vez que as plantas medicinais são classificadas como produtos naturais, a lei permite que sejam comercializadas livremente, e o Ministério da Saúde propõe medidas técnicas e cientificamente comprovadas quanto à eficácia e a utilização das terapias que podem ser aplicadas e orientadas por profissionais da saúde para a comunidade em geral, além de poderem ser cultivadas por aqueles que disponham de condições mínimas necessárias. Com isto, é facilitada a automedicação orientada nos casos considerados mais simples e corriqueiros de uma comunidade (BARRACA, MINAMI, 1999).

Por meio do Decreto nº 5.813 de 22 de junho de 2006, foi aprovado a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, tendo como objetivo geral garantir a população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos promovendo o uso sustentável da biodiversidade. O tópico dez das diretrizes diz que deve se promover e reconhecer as práticas populares de uso de plantas medicinais e remédios caseiros (BRASIL, 2006).

Assim o presente estudo busca a princípio analisar a eficácia de algumas plantas antifúngicas selecionadas pelo critério de fácil localização e cultivo no combate a *Candida albicans*.

2. OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi o de avaliar a eficácia de plantas medicinais na forma de infusão, no controle *in vitro* de *Candida albicans*. As plantas foram selecionadas seguindo o critério de fácil localização e cultivo, e de baixa ou nenhuma toxicidade para o organismo humano. Assim optou-se pelo *Caryophyllus aromaticus* (cravo da Índia), *Eucaliptus citriodora* (eucalipto), *Citrus limon* (limão), *Origanum vulgare* (orégano), *Cymbopogon citratus* (capim cidreira), todas com propriedades medicinais e popularmente utilizadas no Brasil.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Plantas medicinais e saúde humana

A origem do conhecimento sobre as plantas medicinais é um assunto intrigante e fascinante como discorre a história sobre o uso dessas plantas como medicamento. Essa descoberta possivelmente se deu pela observação constante e experimentação empírica desses recursos, outra técnica utilizada pelo homem foi observar o comportamento dos animais domesticados ou não. É sabido que animais domésticos como cães e gatos costumam esvaziar seus estômagos consumindo ervas vomitivas, e obtém com sucesso o objetivo almejado (DI STASI, 1996).

Ainda para o mesmo autor, o café (*Coffe arabica*), foi descoberto acidentalmente por um pastor de ovelhas ao observar o efeito excitante que o fruto desta planta causava nas ovelhas após seu consumo, preparando uma bebida com esses frutos para manter-se acordado e conseguir fazer suas orações do coração. Os animais silvestres são capazes de distinguir as plantas em espécies alimentares e espécies tóxicas, e raramente se enganam

Buscando ainda compreender a origem do uso das plantas medicinais pelo homem Martins (2000), descreve que a utilização das plantas como medicamento é tão antiga quanto o próprio homem na busca da cura de seus males, misturando com as práticas da medicina que por muito tempo esteve associada a práticas mágicas e ritualísticas. Contudo pelas suas propriedades terapêuticas e tóxicas as plantas adquiriram fundamental importância na medicina popular.

Lima (2006), relata que as civilizações antigas como os chineses, egípcios, hindus e gregos estão entre as primeiras que fizeram a catalogação e classificação das plantas medicinais de acordo com seu formato, cor, sabor e aroma, além da ligação com os astros e também com atributos mágicos, utilizando-se das plantas por todas as gerações para os mais diversos fins terapêuticos.

Outros relatos históricos apontam que desde 3000 a.C, a China dedicava-se ao cultivo de plantas medicinais, e até os dias atuais as pesquisas científicas com laboratórios exclusivos voltadas para produtos a base de plantas medicinais são incentivadas, e a cultura popular deste país nas práticas da fitoterapia é fortemente arraigada e utilizada. Na idade média os avanços terapêuticos originados dos estudos com plantas estagnaram, pelo próprio processo histórico desta época de

“retrocesso” do conhecimento. Entretanto, no processo de evolução na arte do curar, todas as culturas trazem em seu processo evolutivo o uso de ervas para a saúde humana (MARTINS, 2000).

A difusão da utilização das plantas medicinais no Brasil ocorreu devido as diferenças culturais e foi difundida pelos índios, negros e europeus. Devido a miscigenação das raças e a grande diversidade de vegetais encontradas no Brasil fez com que as plantas medicinais fossem largamente empregadas para a cura e tratamento de doenças (BRANDÃO, 1996).

As plantas medicinais são um patrimônio e representam um recurso importante para cuidar da saúde das pessoas. O Brasil é o maior detentor da biodiversidade, com cerca de 15 a 20% do total mundial de toda a flora, além de possuir cerca de 55.000 espécies vegetais catalogadas, representando a maior diversidade genética vegetal do mundo, porém pouco explorada no campo da ciência (BRASIL, 2006).

A Organização Mundial da Saúde (OMS), considera as plantas medicinais como importante instrumento de assistência farmacêutica, e por meio de vários comunicados e resoluções enfatizam a necessidade de valorização dessas práticas no âmbito sanitário, visto que 70% a 90% da população nos países em desenvolvimento dependem delas no que se refere a atenção primária. Contudo em alguns países industrializados, o uso de produtos da medicina tradicional é igualmente significativa como o Canadá, França, Alemanha e Itália, onde 70% a 90% da população têm usado esses recursos da medicina tradicional sobre a denominação de complementar, alternativa ou não convencional (BRASIL, 2012).

Segundo Duarte (2006), as propriedades antimicrobianas de substâncias extraídas das plantas como óleos essenciais e extratos são utilizadas empiricamente há séculos e foram comprovadas cientificamente apenas recentemente. A tradição do uso de plantas existe em vários países, principalmente aqueles com flora diversificada como o Brasil, a Índia, o México, e a Jordânia cujos estudos sobre as atividades microbianas das plantas têm sido relatados.

De acordo com Fernandes (2004), as plantas medicinais mesmo sendo uma forma alternativa para tratar doenças e estando presente em diversas culturas desde os tempos mais remotos, sofreram alterações a partir da segunda metade do século XX, quando houve a intensificação da utilização de remédios industrializados. Houve então uma negligência em utilizar as plantas, devido a supremacia dos

medicamentos industrializados que passaram a dominar as novas terapias modernas.

Entretanto os medicamentos industrializados além do alto valor econômico, também apresentam efeitos colaterais, fazendo com que a população busque alternativas mais saudáveis e mais em conta no combate as doenças. (ADEODADO; OLIVEIRA, 1996).

Em meados dos anos 70 e 80 em diversos países dentre eles o Brasil, passou-se a observar um aumento pela busca da medicina alternativa dentre elas a fitoterapia (LUZ, 1997).

3.2. Políticas Públicas e plantas medicinais

A Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos – PNPMF configura decisões de caráter geral que apontam rumos e linhas estratégicas de atuação governamental, reduzindo os efeitos da descontinuidade administrativa e potencializando os recursos disponíveis ao tornarem públicas, expressas e acessíveis à população e aos formadores de opinião, as intenções do Governo no planejamento de programas, projetos e atividades (BRASIL, 2009).

Ainda para o mesmo autor, o processo de formulação do Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos teve seus fundamentos na Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos, que definiu alguns princípios orientadores entre eles a ampliação das opções terapêuticas e melhoria da atenção à saúde aos usuários do Sistema Único de Saúde – SUS, o uso sustentável da biodiversidade brasileira, a valorização e preservação do conhecimento tradicional das comunidades e povos tradicionais, e o fortalecimento da agricultura familiar

No Relatório Final da 8ª Conferência Nacional de Saúde, realizada em 1986, na cidade de Brasília, em seu item 2.3.a, refere: “introdução de práticas alternativas de assistência à saúde no âmbito dos serviços de saúde, possibilitando ao usuário o acesso democrático de escolher a terapêutica preferida” (CONFERÊNCIA NACIONAL DE SAÚDE, 1986).

Um levantamento realizado junto a estados e municípios entre os meses de dezembro de 2004 e janeiro de 2005, com o intuito de obter informações acerca das experiências com plantas medicinais e/ou fitoterápicos, no âmbito das secretarias

estaduais e municipais de saúde, demonstrou que existem diversos programas de fitoterapia implantados ou em fase de implantação, em todas as regiões do Brasil (Brasil, 2006).

Ainda para o mesmo autor, as ações que visam à promoção do uso racional das plantas medicinais e dos fitoterápicos na atenção básica da saúde se revestem de grande importância, porque a população tradicionalmente as utiliza, ainda que, muitas vezes de forma incorreta, e sem a observação de cuidados necessários à garantia da eficácia. Há modelo em que os próprios municípios se responsabilizam pela produção de espécies vegetais “matrizes” e a distribuição às famílias inscritas no PSF. As plantas medicinais produzidas pelas famílias são posteriormente adquiridas pela secretaria municipal de saúde e transformadas em sachês para o preparo de chás, que são disponibilizados aos usuários do SUS, conforme prescrição médica.

3.3. Plantas utilizadas na pesquisa

As plantas selecionadas na pesquisa foram escolhidas de acordo com o fácil acesso e conhecimento popular todas cultivadas no Brasil, assim selecionou-se: *Cymbopogon citratus* (capim limão), pertence a família das gramíneas cultivada em todo mundo inclusive no Brasil. *Origanum vulgare* (orégano), cultivada no Brasil, e muito utilizado como especiaria na culinária Brasileira, originária do sul da Europa. *Eucalyptus citriodora* (eucalipto), árvore de grande porte, originária da Tasmânia e introduzida no Brasil no início de século XX para extração da madeira, e o óleo é utilizado para fins medicinais. *Citrus limon* (limão), árvore espinhenta, caule tortuoso, de pequeno porte, possui frutos do tipo baga com polpa suculenta, é originária do sudoeste da Ásia, muito cultivada no Brasil, é utilizada na culinária, na farmácia e diversos fins industriais. *Caryophyllus aromaticus* (cravinho da Índia), árvore de grande porte, originária da Índia e cultivada em vários países inclusive no Brasil, utilizada como especiaria na culinária, para fins medicinais como antioxidante, antiagregante plaquetária e com atividade antimicrobiana (LORENZI, MATOS 2008).

3.3.1. *Cymbopogon citratus* (capim limão)

Pertence a família *Poaceae* tendo origem na Índia, recebendo também outros nomes como: capim cidreira, capim cindró, capim-limão, erva-cidreira, capim-de-cheiro e chá-de-estrada (Figura 1). Tem indicações terapêuticas como: bactericida, antiespasmódico, calmante, analgésico suave, carminativo, estomáquico, diurético, sudorífico, hipotensor, anti-reumático. Tem sido utilizado contra diarreias, dores estomacais e problemas renais. Pode ser abortivo em doses concentradas (MARTINS, 2000).



Figura 1: *Cymbopogon citratus*
Fonte: Google imagens

Almeida *et al.* (2008), ao avaliar a capacidade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus* na forma de extrato hidroalcoólico, sobre cepas de *Candida* isoladas na cavidade oral humana, identificou as espécies de *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, e *Candida krusei*. Em todas as cepas, *Cymbopogon citratus* apresentou atividade antimicrobiana na Concentração Fungicida Mínima estabelecida no estudo.

Ainda para o mesmo autor, é necessário estudos mais detalhados com outros tipos de preparos e formulações para que futuramente os princípios ativos de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf possam ser utilizados como componentes na produção de novos medicamentos.

3.3.2. *Origanum vulgare* (orégano)

Conhecido também como orégão, manjerona baiana e manjerona selvagem (Figura 2), pertence à família *Labiatae*, possui caule ereto e quadrangular, folhas ovais pontiagudas (verde escuras ou acizentadas); pêlos finos e curtos na face inferior; flores em grupos nas extremidades, avermelhadas. Possui indicações como

aperiente, expectorante, diurético, carminativo e tônico, não tendo referências toxicológicas (Di STASI, 1996).



Figura 2: *Origanum vulgare*
Fonte: Google imagens

Cleff *et al.* (2010), ao analisarem a ação do óleo essencial do orégano em isolados fungicos humanos (*C. albicans*) e isolados clínicos de importância veterinária, obtiveram resultados satisfatórios comprovando a ação antifúngica do orégano frente aos isolados.

3.3.3. *Citrus limon* (limão)

Pertence à família *Rutaceae* sendo uma árvore pequena, espinascente, muito ramificada, de caule e ramos catanho-claros; folhas alternadas, oblongo-elípticas, com pontuações translúcidas; inflorescência de flores axilares, alvas, em cacho, originário do sudeste da Ásia (Figura 3), possui como princípio ativo: citral, linalol, pectina, ácidos cítrico e málico, candineno, felandreno, d-limoneno, citronelal, narcotina, quinolina, estaquidrina, carboidratos, proteínas, sais de potássio, cálcio fósforo, sódio, ferro, manganês e magnésio, vitaminas A, B1, B2 e C. O suco dos frutos serve contra acidez estomacal; é diurético, anti-escorbutico, anti-reumático, anti-desintérico, adstringente e febrífugo. O chá de limão com alho serve contra gripe. Não é considerado tóxico (MARTINS, 2000).



Figura 3: *Citrus limon*
Fonte: Google imagens

3.3.4. *Eucalyptus citriodora* (Eucalipto)

Pertence a família *Mirtaceae* sendo uma árvore alta, ereta, de casca lisa e acinzentada; folhas alternas, falciforme-lanceoladas; flores esbranquiçadas, dispostas em racemos terminais (Figura 4), originário da Austrália. O chá das folhas ou casca da árvore é antisséptico pulmonar, intestinal, anti-asmático, hemostático, febrífugo, anti-catarral. Possui os princípios ativos: eucaliptol, piperitol, cineiol, taninos, pineneo, felandreno e ácidos butírico, capróico, eucalíptico, valeriânico e gálico, não sendo considerada uma planta tóxica (DI STASI, 1996).



Figura 4: *Eucalyptus citriodora*
Fonte: Google imagens

3.3.5. *Caryophyllus aromaticus* (Cravo da Índia)

Pertence a família *Mirtaceae*. É uma árvore mediana, bastante ramificada, folhas simples, oblongas, opostas, inflorescência em corimbos terminais de flores aromáticas a avermelhadas (Figura 5), originário da Malásia. Os princípios ativos

são: cariofileno, furfurool, eugenol, taninos, ácidos galactânico, eugênico e salicílico. O chá é indicado como tônico estomáquico e carminativo. A parte usada da planta são os botões florais secos. Não apresenta efeitos toxicológicos (MARTINS, 2000).



Figura 5: *Caryophyllus aromaticus*
Fonte: Google imagens

Estudos apontam a eficácia das plantas contra bactérias, fungos e leveduras, como a *C. albicans*, considerada um patógeno oportunista causadora de infecções sistêmicas em pessoas predispostas. Vários grupos de pesquisadores de diferentes países têm estudado a inibição de *C. albicans* por extratos, óleos essenciais e substâncias isoladas de plantas com resultados que comprovam a atividade antimicrobiana das plantas (DUARTE, 2006).

3.4. Fungos e Leveduras

Anton Van Leeuwenhoek foi a primeira pessoa a descobrir micro-organismos vivos, classificando as bactérias e os protozoários. No final do século XVII e início do século XVIII, dezenas e milhares de micro-organismos foram descobertos descritos e classificados (BURTON; ENGELKIRK, 2005).

Ainda para os mesmos autores, os micro-organismos podem ser divididos em celulares (bactérias, arqueanas, algas, protozoários e fungos), e acelulares (vírus, viróides e príons). Os micro-organismos celulares podem ser subdivididos em procariontes (bactérias e arqueanas) e eucariontes (algas, protozoários e fungos).

Os fungos são micro-organismos eucariontes que possuem parede celular rígida e podem ser uni ou multicelulares, são desprovidos de clorofila e, portanto, não realizam fotossíntese. Entre os fungos classificados como micro-organismos

estão aqueles que são multicelulares produzem estruturas filamentosas microscópicas e são frequentemente chamados de bolores, enquanto as leveduras são fungos unicelulares. As leveduras unicelulares apresentam-se sob forma variada de esférica a ovóide, de elipsóide a filamentosa, sendo muito utilizados na produção de alimentos como pães, queijos e cerveja. Por outro lado, as leveduras podem ser prejudiciais causando deterioração dos alimentos e doenças como vaginites (PELCZAR; MICHAEL, 2008).

A *C. albicans* é uma levedura oval com brotamento único, faz parte da flora normal das mucosas dos tratos respiratório superior, gastrointestinal e genital feminino. Em tecidos pode aparecer como leveduras em brotamento ou como brotamentos alongados, as pseudo-hifas. Outras espécies são diferenciadas por reações de fermentação de carboidratos, por exemplo, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* e *Torulopsis glabrata*. Como um membro da flora normal, ela já está presente na pele e nas membranas mucosas, e a doença ocorre quando as defesas locais ou sistêmicas do hospedeiro estão comprometidas. *C. albicans* é a espécie mais comum que causa doença disseminada nesses pacientes, mas *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* são também patógenos importantes (LEVINSON, 2005).

As infecções sistêmicas causadas por leveduras vêm aumentando muito nas últimas décadas, devido ao grande número de pacientes imunocomprometidos expostos a esse tipo de infecção. A candidemia é considerada como grave problema de Saúde Pública que pelas condições debilitantes do paciente, leva a um aumento no tempo de internação. Outro fator relevante é que as complicações clínicas decorrentes dessa doença são graves levando a altas taxas de mortalidade (GIOLO; SVIDZINSKI, 2010).

3.5. *Candida albicans*

A *Candida albicans* é uma levedura oportunista que vive de forma inofensiva na pele e nas membranas, nas mucosas da boca e dos tratos gastrointestinais e geniturinários. Quando as condições ocasionam redução no número das bactérias indígenas nestes locais anatômicos, a *Candida albicans* floresce, acarretando infecções na boca (estomatite), pele e vagina (vaginite por levedura). Este tipo de infecção local pode se tornar um foco a partir do qual os micro-organismos invadem

a corrente circulatória originando uma infecção generalista ou sistêmica em muitas áreas internas. A *Candida albicans* é a levedura mais frequente isolada de amostras clínicas de seres humanos, e, portanto, o fungo dito como patógeno humano (BURTON, ENGELKIRK, 2005).

A candidíase é uma infecção das mucosas, pele e unhas causada por leveduras do gênero *Candida*, principalmente *C. albicans* e outras espécies, também chamada de candidose e monilíase, é a mais frequente infecção fúngica oportunista, sendo capaz de causar quadros sistêmicos de invasão de órgãos importantes. A candidemia é definida como o isolamento de qualquer espécie de *Candida* na corrente sanguínea, com ou sem comprometimento visceral (HINRICHSEN, 2005).

Em um estudo realizado cujo objetivo foi identificar os fatores de risco hospitalar e os mecanismos da candidemia adquirida na comunidade, este agravo foi apontado como importante causa de morbimortalidade em pacientes hospitalizados com uma incidência de 2 a 8 casos para cada 10000 egressos, com uma mortalidade atribuída de 20 a 50% associada a enfermidades disseminadas. Quanto a mortalidade houve uma variação de acordo com a espécie; *C. albicans* (31%), *C. glabrata* (27%), *C. tropicalis* (28%), *C. parapsilosis* (14%) e *C. krusei* (0%). Neste mesmo estudo foi apontada a colonização cutânea por *C. parapsilosis* em um grupo (SOFAIR, LYON, HUIE-WHITE, 2006).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Linhagem e preparação do inóculo

Foi utilizada a linhagem padrão de *Candida albicans* ATCC25923 (American Type Culture Collection).

O preparo do inóculo para os testes de susceptibilidade foram realizados de pelo método de diluição em tubos, seguindo os protocolos do NCCLS (National Committee e for Clinical Laboratory Standards, 2004). Culturas de 24 horas em meio Sabouraud agar (Oxoid[®]) foram transferidas para meio Sabouraud Broth (Oxoid[®]) e incubadas a 37°C por 24 horas, quando se procedeu a centrifugação (4000 rpm) por cinco minutos, em seguida o sobrenadante foi desprezado e o material precipitado foi ressuspendido em solução estéril de NaCl (0,5%) e novamente submetido a centrifugação. Este procedimento foi repetido cinco vezes com a finalidade de retirar os componentes do meio de cultura.

O material precipitado obtido foi ressuspendido em 10mL de solução estéril de NaCl (0,5%), em seguida foram adicionados 90mL de solução de NaCl, e foram ajustadas ao tubo 0,5 da escala de Mc Farland. A partir desta solução foram realizadas diluições seriadas resultando em uma concentração de $1,5 \times 10^6$ UFC mL⁻¹.

4.2. Material botânico

Os espécimes *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf, *Eucalyptus citriodora*, e *Citrus limon*, foram coletados na Fazenda Santa Rita localizada na Estrada Projetada F-1, s/n Fernandópolis, São Paulo, Brasil, CEP: 15600-000. Fone: (17) 3465-4200, no período de maio de 11/06/2013 à 27/03/2014, a parte utilizada da planta foram as folhas. *Caryophyllus aromáticos* foi utilizado na forma industrializada sendo utilizados botões florais secos e *Origanum vulgare* também na forma industrializada, sendo utilizadas as folhas secas.

4.3. Preparo das infusões

Para o preparo das infusões foi utilizado 100 mL de água destilada (AD) para cada 1g da planta que foi pesada em balança de precisão. A AD foi submetida ao processo de ebulição (em ebulidor previamente desinfetado com álcool 70%) em seguida colocada sobre a planta em recipiente de vidro graduado em ml (Becker), deixado em infusão por 5 minutos, depois de coada em papel filtro foi levada para o fluxo laminar. Foram preparados previamente microtubos (esppendorfs) esterelizados em autoclave. Em cada microtubo foi colocado 900uL de TSB e 100uL de *C. albicans*, em seguida foi adicionado a infusão preparada de acordo com a concentração inibitória mínima (CIM), e identificado para posterior aplicação nas placas de petri em triplicata. A Figura 6 apresenta a preparação dos microtubos em triplicata.

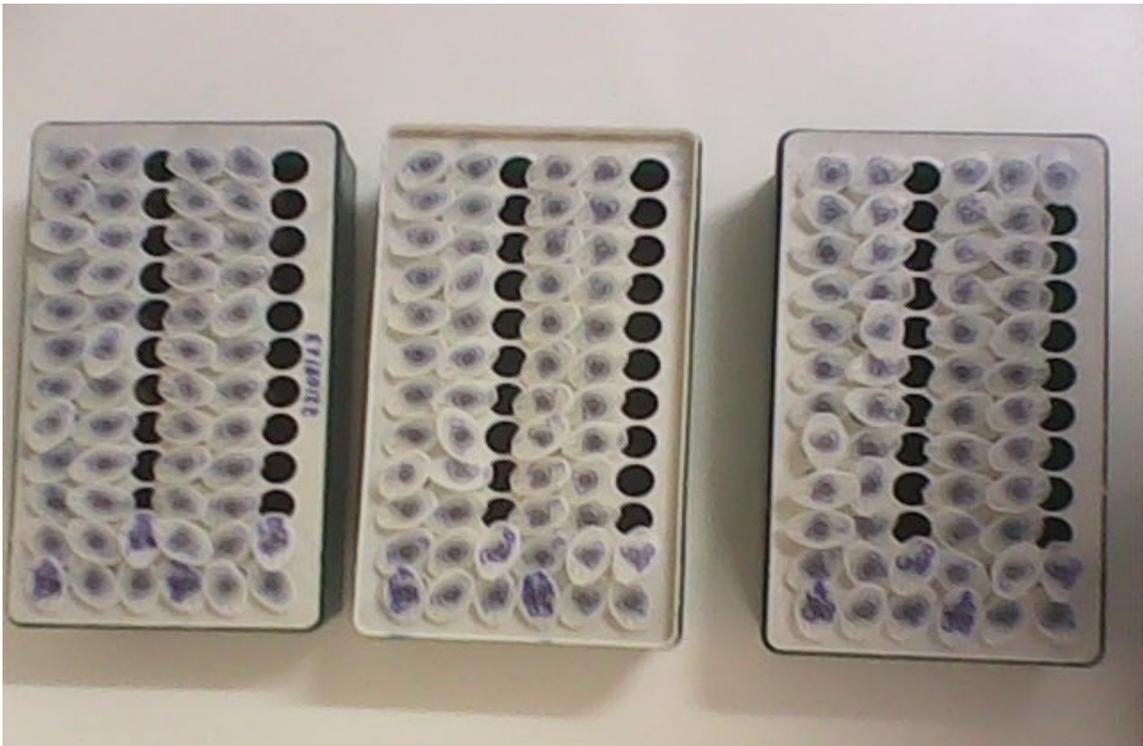


Figura 6: Microtubos em triplicata contendo: infusão, *C.albicans*, TSB (meio de cultura).
Fonte: Do próprio autor

4.4. Determinação da concentração inibitória mínima

A CIM das infusões foi determinada seguindo os protocolos do NCCLS (2004). A CIM foi considerada como a menor concentração da infusão capaz de inibir o desenvolvimento fúngico.

A preparação prática em laboratório de biotecnologia foi seguida de etapas:

- Primeira etapa: Em cada microtubo preparado com o 900uL de TSB mais 100uL de *C. Albicans*, acrescia em cada um 10uL de infusão, assim iniciou-se com a infusão com 10uL, 20uL, 30uL, 40uL até 350uL em um dia de trabalho;
- Segunda etapa: Os microtubos preparados permaneciam por 24 horas em incubadora par avaliação de crescimento fungico;
- Terceira etapa: Aplicado solução de tretazoli (corante) identificador de atividade fungica;
- Quarta etapa: identificou-se a concentração inibitória minima pelo microtubo que não sofreu coloração. Após esta última etapa o microtubo que não sofreu coloração supostamente por não ter crescimento fungico, para maior segurança do resultado, foi transferido para placa de petri, em triplicata. Também foi feito este procedimento nos tres ultimos microtubos que sucederam ao avaliado. Juntamete para cada infusão os procedimentos procederam da mesma forma.

A Figura 7 apresenta a aplicação de tetrazoli para identificação da concentração inibitória mínima.



Figura 7: Aplicação de tetrazoli para avaliação da concentração inibitória mínima (microtubos em triplicata)

Fonte: Do próprio autor

4.5. Determinação da concentração fungicida mínima

A concentração fungicida mínima (CFM) foi determinada após determinação da CIM. Os tubos contendo crescimentos visíveis ou não foram agitados vigorosamente, em seguida 100µL da solução de cada tubo foram transferidos para placas de Petri contendo meio sabouraud dextrose agar e incubados a 37°C por 24 h . Designou-se como CFM a concentração mínima em que não ocorreu crescimento fúngico (FAVRE *et al.*, 2003).

Uma vez determinada a CIM e a CFM foi avaliado o crescimento fúngico na presença das infusões em função do tempo, determinando-se a curva de sobrevivência de acordo com a metodologia descrita por SFORCIN *et al.*, (2000).

A partir dos dados obtidos foi quantificado o percentual de redução da contagem de *C. albicans* em relação ao tempo anterior avaliado. Isso foi necessário devido ao fato de que a contagem inicial se diferenciou entre os extratos avaliados, sendo necessário avaliar a redução relativa entre os tempos avaliados. Para isso, foi utilizada a seguinte expressão:

$$\% \text{ redução} = \frac{MO_{antes} - MO_{depois}}{MO_{antes}}$$

Para calcular o percentual de redução da contagem microbiana entre os tempos de exposição de 15 e 30 minutos, a expressão foi a seguinte:

$$\% \text{ redução}_{15-30min} = \frac{MO_{15min} - MO_{30min}}{MO_{15min}}$$

Sendo, sempre o percentual de redução referente ao valor da contagem microbiana do tempo de exposição anterior ao avaliado. A Figura 8 apresenta o crescimento fúngico em relação ao tempo.

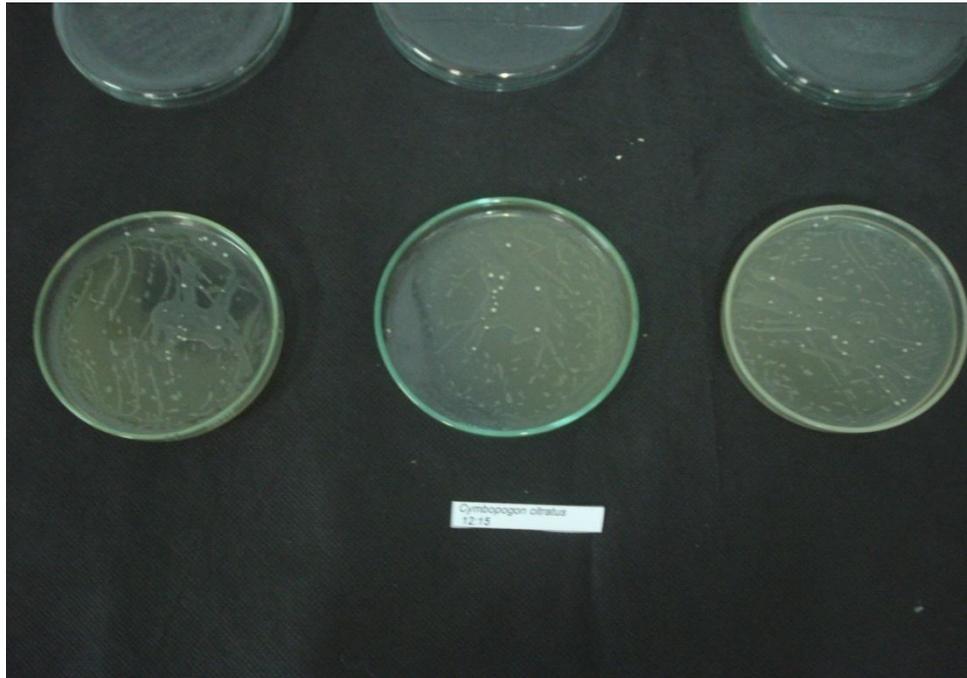


Figura 8: Avaliação do crescimento fúngico em relação ao tempo (Placas de Petri em triplicata)
Fonte: Do próprio autor

4.6. Análise estatística

Foram utilizadas estatísticas descritivas com abordagem de teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis com teste de comparação múltipla de Dunn post-hoc, ao nível de significância de 0,05.

5. RESULTADOS

Na tabela 1 estão apresentados os resultados da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Fungicida Mínima (CFM) de infusões sobre *C.albicans*. Verificou-se que todas as infusões apresentaram atividade antifúngica, no entanto, a maior eficácia foi apresentada pelas infusões de orégano, cidreira e limão, com CIM de 10%, 8% e 5%, respectivamente.

Tabela 1: Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM) de infusões sobre *Candida albicans*

Plantas medicinais		Concentração das infusões (%)	
Nome científico	Nome vulgar	CIM	CFM
<i>Eucaliptus citriodora</i>	Eucalipto	40	50
<i>Caryophyllus aromaticus</i>	Cravo da Índia	20	30
<i>Origanum vulgare</i>	Orégano	10	10
<i>Cymbopogon citratus</i>	Cidreira	8	10
<i>Citrus limon</i>	Limão	5	8

A Tabela 2 mostra a estatística descritiva da contagem de *C. albicans* em relação aos tempos de exposição do microrganismo à planta medicinal avaliada.

Os resultados mostram que para todas as plantas medicinais, as medianas da contagem microbiana de *C. albicans* apresentaram diferenças significativas, visto que todos os valores P foram inferiores ao nível de significância adotados ($P < 0,050$). Para todos os casos, com exceção de *C. limon*, as medianas do tempo 0 minutos diferenciaram de forma significativa das medianas do tempo final (90 min ou 105 min), tempo esse que zerou a contagem microbiana. No entanto, para *C. limon*, a contagem do tempo zero se diferenciou de forma significativa dos tempos de 90 e 105 minutos, sendo que a contagem do tempo 15 minutos também se diferenciou da contagem do tempo de 105 minutos.

Tabela 2: Contagem de *Candida albicans* em relação aos tempos de exposição do microrganismo à infusão

Planta medicinal	Contagem de <i>Candida albicans</i>			Valor P ¹
	Tempo (min)	$\bar{x} \pm s$	Md ²	
<i>Cymbopogon citratus</i>	0	$1,50.10^6 \pm 0,00$	$1,50.10^6$ a	0,005
	15	$6,96.10^5 \pm 5,77.10^3$	$7,00.10^5$ ab	
	30	$5,13.10^4 \pm 1,15.10^3$	$5,20.10^4$ ab	
	45	$2,95.10^4 \pm 3,85.10^4$	$7,30.10^3$ ab	
	60	$7,36.10^2 \pm 5,77$	$7,40.10^2$ ab	
	75	$2,63.10^1 \pm 0,57$	$2,60.10^1$ ab	
	90	$0,00 \pm 0,00$	$0,00$ b	
<i>Caryophyllus aromaticus</i>	0	$1,06.10^6 \pm 1,15.10^5$	$1,00.10^6$ a	0,003
	15	$7,76.10^4 \pm 5,77.10^2$	$7,80.10^4$ ab	
	30	$7,23.10^3 \pm 5,77.10^1$	$7,20.10^3$ ab	
	45	$3,46.10^2 \pm 5,77$	$3,50.10^2$ ab	
	60	$5,93.10^1 \pm 0,57$	$5,90.10^1$ ab	
	75	$6,00.10^0 \pm 0,00$	$6,00.10^0$ ab	
	90	$0,00 \pm 0,00$	$0,00$ b	
<i>Eucaliptus citriodora</i>	0	$8,33.10^6 \pm 3,05.10^5$	$8,40.10^6$ a	0,003
	15	$6,16.10^4 \pm 5,77.10^2$	$6,20.10^4$ ab	
	30	$6,23.10^3 \pm 5,77.10^1$	$6,20.10^3$ ab	
	45	$4,33.10^2 \pm 5,77$	$4,30.10^2$ ab	
	60	$3,20.10^1 \pm 1,00$	$3,20.10^1$ ab	
	75	$7,66.10^0 \pm 1,52$	$8,00.10^0$ ab	
	90	$0,00 \pm 0,00$	$0,00$ b	
<i>Citrus limon</i>	0	$1,00.10^6 \pm 0,00$	$1,00.10^6$ a	0,001
	15	$5,50.10^4 \pm 2,51.10^4$	$4,10.10^4$ ab	
	30	$3,86.10^3 \pm 8,08.10^3$	$3,40.10^3$ abc	
	45	$4,06.10^2 \pm 6,35.10^1$	$3,70.10^2$ abc	
	60	$2,13.10^2 \pm 5,77$	$2,10.10^2$ abc	
	75	$6,83.10^1 \pm 0,57$	$6,80.10^1$ abc	
	90	$6,00 \pm 1,73$	$5,00$ bc	
105	$0,00 \pm 0,00$	$0,00$ c		
<i>Origanum vulgare</i>	0	$3,12.10^7 \pm 4,04.10^7$	$7,90.10^6$ a	0,002
	15	$5,23.10^5 \pm 5,77.10^3$	$5,20.10^5$ ab	
	30	$5,60.10^3 \pm 0,00$	$5,60.10^3$ ab	
	45	$7,30.10^2 \pm 1,00.10^1$	$7,30.10^2$ ab	
	60	$3,03.10^2 \pm 5,77$	$3,00.10^2$ ab	
	75	$5,30.10^1 \pm 1,00$	$5,30.10^1$ ab	
	90	$2,00 \pm 1,00$	$2,00$ ab	
105	$0,00 \pm 0,00$	$0,00$ b		

¹Valor P referente ao teste de Kruskal-Wallis a 0,05 de significância.²Letras diferentes na mesma coluna indicam medianas significativamente diferentes a 0,05 de significância.

Os resultados apresentados na Tabela 2 mostram que o tempo de exposição, nas concentrações inibitórias utilizadas, é fator determinante para a diminuição da

contagem microbiana de *C. albicans*, no entanto, na maioria dos casos, exceto no *C. limon*, a diferença da contagem desse microrganismo somente é significativa quando a contagem é zerada.

A Tabela 3 mostra as medianas dos percentuais de redução da contagem de *C. albicans* para cada um dos extratos medicinais utilizadas.

Tabela 3: Medianas dos percentuais de redução da contagem microbiana de *C. albicans* para cada planta medicinal

Tempo (min)	% de redução da contagem microbiana				
	<i>Cymbopogon citratus</i>	<i>Caryophyllus aromaticus</i>	<i>Eucaliptus citriodora</i>	<i>Citrus limon</i>	<i>Origanum vulgare</i>
0 – 15	53,3 ^b	92,2 ^{ab}	99,2 ^a	95,9 ^{ab}	93,4 ^{ab}
15 - 30	92,5 ^{ab}	90,6 ^{ab}	89,8 ^b	91,7 ^{ab}	98,9 ^a
30 – 45	85,6 ^b	95,2 ^a	93,0 ^{ab}	89,1 ^{ab}	86,9 ^{ab}
45 – 60	89,8 ^{ab}	83,1 ^{ab}	92,7 ^a	43,2 ^b	58,9 ^{ab}
60 – 75	96,4 ^a	89,8 ^{ab}	75,0 ^{ab}	67,6 ^b	82,6 ^{ab}
75 – 90	100	100	100	92,6	96,1
90 – 105	-	-	-	100	100

¹Valor P referente ao teste de Kruskal-Wallis.

²Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas a $P < 0,05$.

Os resultados da Tabela 3 indicam a presença de diferenças significativas nos percentuais de redução da carga microbiana para cada um dos intervalos avaliados, sendo que para os primeiros 15 minutos de exposição, o *E. citriodora* se destacou como a planta mais eficiente na redução da contagem de *C. albicans*. Em contrapartida, *C. citratus* apresentou ser a menos eficaz nos primeiros 15 minutos.

Para os quinze minutos subsequentes, *O. vulgare* apresentou-se mais eficaz, reduzindo cerca de 98,9% da contagem microbiana em relação ao intervalo anterior. Entre 30 e 45 minutos, *C. aromaticus* apresentou ser mais eficaz reduzindo cerca de 95,2% da contagem microbiana. Entre 45 e 60 minutos, *E. citriodora* novamente torna-se o mais eficaz na redução da contagem, reduzindo 92,7% da contagem microbiana em relação ao intervalo anterior. Para tempos acima de 60 minutos, *C. citratus* e destaca, diminuindo drasticamente a contagem de *Candida albicans*.

Diante desse contexto é possível pressupor que *E. citriodora* e *O. vulgare* exercem maior atividade antimicrobiana nos primeiros intervalos de exposição do microrganismo à estas plantas, ao passo que *C. citratus* exerce maior função antimicrobiana em tempos maiores de exposição do microrganismo.

A Figura 9 representa o comportamento dos percentuais de redução da carga microbiana ao longo dos intervalos avaliados. Nota-se que somente a *C. citratus*

apresentou baixa redução em um primeiro momento, promovendo certo aumento do percentual de redução nos tempos posteriores. Na maioria dos extratos avaliados, houve certa redução da eficácia na diminuição da contagem após os 45 minutos, aumentando a eficácia após esse tempo. Isso pode estar interligado à saturação do meio ou à adaptabilidade do microrganismo ao composto ativo da planta. No entanto, após esse tempo, a carga microbiana volta a diminuir, até atingir o valor nulo.

Vale ressaltar que *C. citratus* (cidreira), *C. aromaticus* (cravo) e *E. citriodora* (eucalipto) causaram contagem nula de microrganismo no tempo de 90 minutos, ao passo que *C. limon* (limão) e *O. vulgare* (orégano) atingiram contagem nula aos 105 minutos. Assim, as três primeiras amostras apresentaram maior eficácia devido ao fato de zerar a contagem microbiana em um tempo menor.

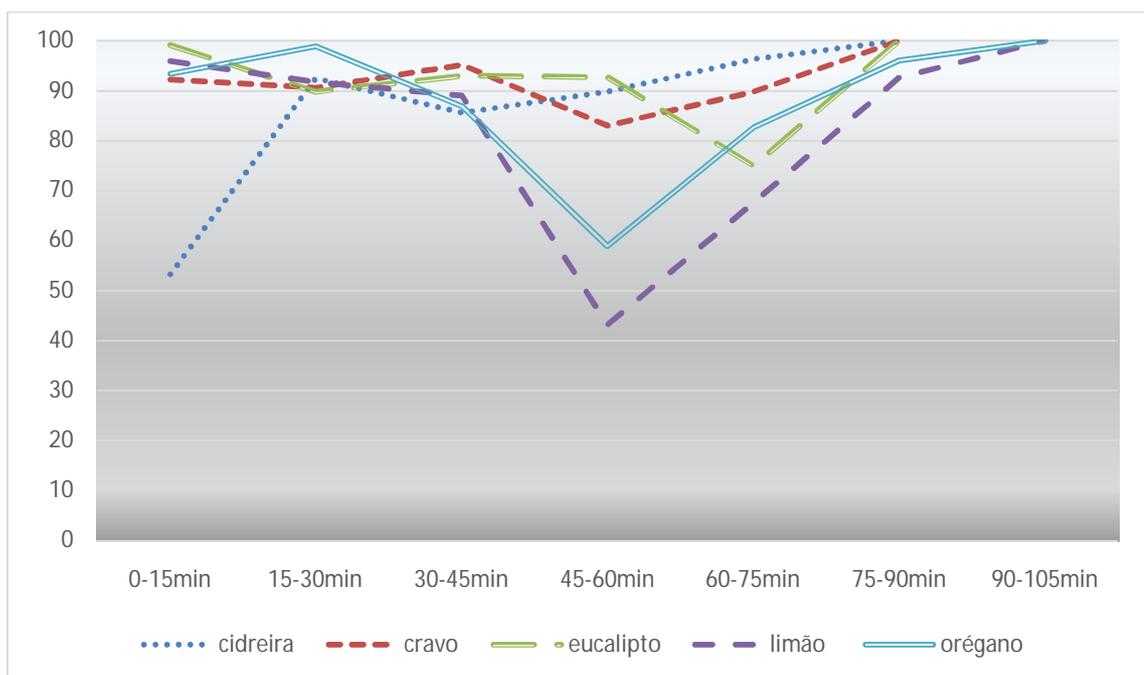


Figura 9: Comportamento do percentual da redução microbiana ao longo dos tempos avaliados

Diante desses resultados é válido considerar a ação pontual de cada extrato medicinal, no entanto, estudos de sinergia entre os extratos se fazem necessário, pois como pode se comprovar, algumas plantas como a *C. citratus* apresentam relevante atividade antimicrobiana após um tempo de exposição considerável, o que não se observa nos demais extratos. Assim, a sinergia destas plantas, ou seja, a ação combinada desses extratos pode acarretar melhores resultados no que se refere à atividade antimicrobiana.

Atualmente o Ministério da Saúde vem incentivando as práticas relacionadas ao uso da fitoterapia como medidas curativas de uso e conhecimento popular, ressaltando que uma boa parte da população, principalmente aquelas que residem em regiões subdesenvolvidas utilizam as plantas medicinais praticamente como único recurso disponível em suas necessidades de restabelecimento da saúde (BRASIL, 2012). As plantas utilizadas no presente estudo vêm de encontro a essa temática por se tratarem de fácil acesso e conhecimento popular, e, utilizadas na forma de infusão tornam-se acessíveis seu uso futuro em seres humanos.

Pesquisadores apresentam em seus estudos a eficácia de plantas medicinais com ações microbianas, o que torna seu uso favorável comprovando a importância em aprofundar os conhecimentos científicos baseados no uso popular desses fitoterápicos, tornando cada vez mais seguro a utilização dessas plantas pela população.

6. DISCUSSÃO

C. citratus conhecido popularmente como erva-cidreira, capim-de-cheiro e chá-de-estrada, tem indicações terapêuticas como: bactericida, antiespasmódico, calmante, analgésico suave, carminativo, estomáquico, diurético, sudorífico, hipotensor, e anti-reumático Martins (2000). No estudo em questão *C. citratus* se destacou quanto a eficácia na ação fungicida para *C. albicans*, quando agiu em diferentes tempos de exposição atingindo valor nulo de leveduras em 90min.

Almeida et.al (2008), avaliaram a capacidade antimicrobiana de *C. citratus* na forma de extrato hidroalcoólico sobre as cepas de *Candida* isoladas na cavidade oral humana, sendo identificadas as espécies de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, e *C. krusei*. Em todas as cepas, *C. citratus* apresentou atividade antimicrobiana, assemelhando ao presente estudo. Ao analisar os efeitos do óleo essencial de *C. citratus* sob as cepas de *Candida*, Almeida et al. (2013), concluíram que *C. citratus* apresentou ação bacteriostática para todas as estirpes de *Staphylococcus spp.*, e *Staphylococcus mutans* em diferentes concentrações, apresentando ainda atividade fungistática para as cepas de *Candida ssp.*

Outros autores mostram a atividade de plantas medicinais com resultados satisfatórios sobre culturas de micro-organismos. Nogueira et al. (2008), avaliaram a atividade antibacteriana dos extratos e/ou óleos essenciais de algumas plantas entre elas *C. aromaticus*, que apresentou atividade sobre o crescimento de duas cepas de *Candida* isoladas. No estudo apresentado *C. aromaticus* apresentou ação fungicida em todos os intervalos de exposição, porém com ação pontual mais eficaz nos 30 a 45 min de exposição atingindo contagem nula de leveduras após 90 min de exposição, o que mostra a eficácia desta planta também na forma de infusão.

Lima et al. (2006), também avaliaram óleos essenciais de plantas medicinais apresentando resultados promissores entre elas, *C. limon* e *E. citriodora*, que apresentaram efetividade de inibição em pelo menos uma cepa ensaiada, afirmando ainda que os compostos de origem vegetal apresentam relevante significância pelo seu potencial antibiótico.

Neste estudo, as plantas descritas anteriormente pelos outros autores, também apresentaram efetividade antifúngica, contudo na forma de infusão. *C. limon*, conhecido popularmente como limão, apresentou eficácia neste estudo atingindo

contagem nula de leveduras após 105 min de exposição, comparado as outras plantas. *C. limon* foi a planta menos eficaz, porém de grande importância por mostrar ação fungicida sobre *C. albicans*.

E. citriodora, conhecido como eucalipto, apresentou significativa eficácia em intervalos menores de exposição comparado as demais plantas estudadas, podendo ser apontada como a planta mais eficaz em relação ao tempo de ação, atingindo contagem nula de leveduras em 90 min de exposição.

O. vulgare, conhecido também como orégano, manjerona baiana e manjerona selvagem, foi testado neste estudo apresentando também uma melhor eficácia em um tempo menor de exposição, assemelhando-se a *C. limon* por apresentar contagem nula de leveduras em um tempo maior, após 105 min de exposição. *O. vulgare* possui indicações como aperiente, expectorante, diurético, carminativo e tônico, não tendo referências toxicológicas (Di STASI, 1996).

De acordo com Cleff *et al.* (2010), a ação do óleo essencial de *O. vulgare* em isolados fúngicos humanos (*C. albicans*) e isolados clínicos de importância veterinária, apresentou resultados satisfatórios *in vitro*, e os autores apontam a necessidade de pesquisas *in vivo* que confirmem a relação destes resultados.

7. CONCLUSÃO

Em conclusão, o presente estudo revelou ação antifúngica de *C. citratus*, *C. aromaticus*, *O. vulgare*, *E. citriodora*, e *C.limon*. As plantas estudadas mostraram eficácia contra *C. albicans*, ressaltando ainda que foram preparadas em forma de infusão, aproximando-se das formas preparadas popularmente, o que torna sua relevância ainda maior. É sabido pelas descrições dos autores citados neste estudo que as plantas medicinais são utilizadas pelas pessoas desde a antiguidade, e vem acompanhando a evolução do ser humano até os dias atuais. O uso de chás terapêuticos são recursos popularmente conhecidos e praticados, comprovar a eficácia dessas ervas e a maneira correta na utilização é de interesse e responsabilidade do meio científico, permitindo assim aliar o conhecimento popular com o conhecimento técnico trazendo benefício a todos.

A importância da continuidade desses estudos, pode possibilitar futuramente sua aplicação in vivo para confirmação e confronto dos resultados, permitindo o progresso na busca de alternativas terapêuticas que possam oferecer baixo custo, fácil aplicabilidade, baixa toxicidade e promover uso sustentável da biodiversidade na manipulação e cultivo dessas e outras plantas pela comunidade em geral.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEODADO, S.; OLIVEIRA, L.; OLIVEIRA, V. **Uma farmácia no fundo do quintal**. São Paulo: Globo. 1996.

ALMEIDA, RBA, et al. **Atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf sobre *Candida spp.*** Rev. de Odontologia da Unesp. 2008; 37 (2): 147 – 153.

ALMEIDA, RBA et al. Antimicrobial activity of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf on *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus mutans* and *Candida spp.* **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu , v. 15, n. 4, 2013

BARRACA, S.A, MINAMI, K. **Relatório do estágio supervisionado. Produção Vegetal – II Manejo e produção de plantas medicinais e aromáticas**. U.S. P, julho, 1999.

BRANDÃO, M.G.L. Plantas Medicinais. In: GUERRA, C. B., BARBOSA, F. A. R. (org.). **Programa de Educação Ambiental na Bacia do Rio Piracicaba**. Belo Horizonte: Editora da UFMG, p.173-193, 1996.

BRASIL. Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006. **Diário Oficial da União – Seção I nº119**. Poder Executivo. DF. Sexta-feira, 23 de junho de 2006. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/decretofitoterapicos.pdf>, acesso em: 15/05/2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na atenção básica**. Secretária de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde, 2012. 156p (Série A. Normas e Manuais Técnicos), (Cadernos de Atenção Básica; n. 31).

BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Secretária de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2009. 136p (Série C. Projetos, Programas e Relatórios).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **A Fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisas de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos.**

Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 148p (Série B.Textos Básicos de Saúde).

BURTON G.R.W; ENGELKIRK P.G. **Microbiologia para as ciências da saúde:** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

CHEFF, et al. **Atividade inibitória do óleo essencial de orégano em fungos de importância médica e veterinária.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.62, n.5, p.1291 – 1294, 2010.

CONFERÊNCIA NACIONAL DE SAÚDE, 8., 1986, Brasília. **Relatório...** Brasília: Ministério da Saúde, 1986.

DI STASI, L.C. **Plantas medicinais: arte e ciência.** São Paulo: Editora Unesp, 1996.

DUARTE, M.C.J. **Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil.** Divisão de Microbiologia, Unicamp, 2006.

FAVRE B, HOFBAUER B, HILDERING K, RYDER NS. Comparison of in vitro activities of antifungal drugs against a panel of 20 dermatophytes by using a microdilution assay. **J Clin Microbiol.** 2003; 41:4817.

FERNANDES, T.M. **Plantas medicinais: memória da ciência no Brasil.** Rio de Janeiro: Fiocruz. 260p, 2004

FIGUEIREDO, N.M.A, TONINI, T (Org.) **SUS e PSF para enfermagem: práticas para o cuidado em saúde coletiva.** São Caetano do Sul, SP: Yendis, 2007.

GIOLO, M P; SVIDZINSKI, T I E; **Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia.** *J. Bras. Patol. Med. Lab.*, Jun 2010, vol.46, no.3, p.225-234. ISSN 1676-2444.

GOOGLE imagens. **Capim limão**. Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Capim-lim%C3%A3o>. Acesso em 12/01/2015.

GOOGLE imagens. **Caryophyllus aromaticus**. Disponível em: <https://www.google.com.br/search?q=cravo+da+india&biw=1280&bih=656&source>. Acesso em 12/01/2015.

GOOGLE imagens. **Orégano**. Disponível em: http://de.wikipedia.org/wiki/Griechischer_Oregano. Acesso em 12/01/2015.

GOOGLE imagens. **Eucaliptus**. Disponível em: <https://www.google.com.br/search?q=eucaliptus&biw=1280&bih=656&sour>. Acesso em 12/01/2015.

GOOGLE imagens. **Citruslimon**. Disponível em: <https://www.google.com.br/search?q=citrus+limon&hl=pt&biw=1280&bih>. Acesso em 12/01/2015.

GOUVEIA, N. **Saúde e meio ambiente nas cidades: Os desafios da saúde ambiental**. Saúde e Sociedade 8(1): 49-61. 1999.

HINRICHSEN, Sylvia Lemos. **Doenças infecciosas e parasitárias**. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2005. 1098 p., il. ISBN 85-277-0944-9.

LEVINSON, Warren. **Microbiologia médica e imunologia**. 7.ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2005. 632 p., il. ISBN 85-363-0078-7.

LIMA, L. Fitoterápicos e usos de plantas medicinais. **Jornal da Unesp**, ano XVI, n. 166, 2006. Disponível em: <<http://www.unesp.br/aci/jornal/166/farmacologia.htm>>. Acesso em: 15 set. 2014.

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 Candida**: Rev. Bras. de farmacognosia, 16 (2): p. 197 – 201, abr/jun. 2006.

LORENZI, Harri; MATOS, Francisco José de Abreu. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2.ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008. 544 p., il. ISBN 85-86714-28-3.

LUZ, M. T. Cultura contemporânea e medicinas alternativas: novos paradigmas em saúde no fim do século XX. **PHYSIS – Revista de Saúde Coletiva**. Rio de Janeiro, v. 7, n. 1,1997.

MARTINS, E.R; CASTRO, D.M; CASTELLANI, D.C; DIAS, J.E. **Plantas medicinais**. Viçosa: UFV, 2000.

NCCLS-NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS -. **Method for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacterial that grow aerobically**:Approved Standard M7.A6. 7.ed. Pennsylvania: Wayne, 2004.

NOGUEIRA, J.C.R.; DINIZ, M.F.M.; LIMA, E.O. **Atividade antimicrobiana in vitro de produtos vegetais em otite externa aguda**, Rev. Bras de otorrinolaringologia, v.74 (1), p 118 – 124, 2008.

PELCZAR, J., MICHAEL, J. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2.ed. São Paulo, SP: Makron Books, 2008. v.2 (517 p.).

SANTOS, L. **Meio ambiente e saúde, Competências, Intersetorialidade**. Direito Sanitário. USP/OPAS, 2002.

SFORCIN, J. M.; FERNANDES, J.R., A; LOPES, C. A. M.; BANKOVA, V.; FUNARI, S. C. Seasonal effecton Brazilian própolis antibacterial activity. **J. Ethnopharm.**, v.73, p. 243-249, 2000.

SOFAIR AN, LYON GM, HUIE-WHITE S, et al. **Candidemia adquirida em Iacomunidad**.ClinInfectDis 2006; 43: 32-9.

TORTORA, Gerard J. **Microbiologia**. 8.ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2008.

WANG GS, DENG JH, MA YH, et al. **Mechanisms, clinically curative effects, and antifungal activities of cinnamon oil and pogostemon oil complex against three species of Candida.** J traditional Chinese Medicine 2012 March 15; 32 (1): 1-2 ISSN 0255-2922. Disponível em: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22594097.