

EFEITO ANTIFÚNGICO DE *Scleroderma citrinum* FRENTE A leveduras do gênero *Candida*

EMANOELE FIGUEIREDO SERRA¹; ANNA LUIZA SILVA²; STEFANIE BRESSAN WALLER³; NICOLAS CONTER TAVARES⁴; RENATA OSÓRIO DE FARIA⁵;
MÁRIO CARLOS ARAÚJO MEIRELES⁶

¹ Universidade Federal de Pelotas – emanoele.serra@gmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – annavet@live.com

³ Universidade Federal de Pelotas – waller.stefanie@yahoo.com.br

⁴ Universidade Federal de Pelotas – nicolasc.tavares@gmail.com

⁵ Universidade Federal de Pelotas – renataosoriorfaria@hotmail.com

⁶ Universidade Federal de Pelotas – meireles@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

As candidoses são enfermidades fúngicas que acometem homens e animais, no entanto, não possuem caráter zoonótico. As leveduras do gênero *Candida* são classificadas como causadoras de micoses oportunistas, ou seja, sua manifestação clínica ocorre a partir de um desequilíbrio imunológico do hospedeiro (BRITO et al., 2009). O gênero *Candida* está envolvido em cerca de 80% das infecções nosocomiais (COLOMBO et al., 2003).

Em virtude do aumento da frequência dos relatos de micoses em animais (BLANCO & GARCIA, 2008; MATSUDA, 2009; CLEFF et al. 2008) e o reduzido número de fármacos antifúngicos disponíveis para o tratamento dessas enfermidades, a busca por alternativas terapêuticas se faz urgente e necessária.

O uso de medicamentos antifúngicos de maneira geral acarreta prejuízos ao paciente sobre vários aspectos relativos ao prolongado tempo de uso, ao custo com o medicamento ou danos referentes ao seu efeito tóxico quando metabolizado (MORESCO et al., 2011). O desenvolvimento de resistência aos medicamentos antifúngicos é também um fato importante principalmente considerando-se as espécies do gênero *Candida* (CASTRO et al., 2006).

A micoterapia consiste na utilização de fungos macroscópicos (cogumelos) na forma de extratos para fins medicinais e terapêuticos. É uma alternativa natural de difusão empírica principalmente entre povos asiáticos e indígenas (PEDRAZA VARGAS, 2013).

Scleroderma citrinum é um macromiceto gasteroide, de ecologia micorrízica, que pode ser encontrado no Rio Grande do Sul em associação mutualística com árvores de *Pinus* spp. (CORTEZ, 2011). Esse cogumelo, de conhecido potencial tóxico, possui atividade inseticida (WEI et al., 2004) e compostos bioativos capazes de inibir o crescimento de fungos fitopatogênicos (SOYTONG et al., 2014).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a ação *in vitro* do extrato aquoso de *Scleroderma citrinum* em leveduras do gênero *Candida*.

2. METODOLOGIA

Os basidiomas maduros de *S. citrinum* foram coletados e mantidos em temperatura ambiente por 15 dias para promover a desidratação natural dos mesmos. Para preparação do extrato aquoso, 10 gramas de cogumelos secos foram macerados e dissolvidos em um erlenmeyer contendo 50 ml de água

destilada esterilizada. A solução foi aquecida em bico de bunsen até a fervura, mantendo-se por 15 minutos o processo de decocção. Após, a solução já a temperatura ambiente foi filtrada e envasada em tudos falcon, identificada e estocada em geladeira a 5°C até o uso.

Para o teste de sensibilidade *in vitro* foram utilizadas três cepas padrão e oito isolados do gênero *Candida* cedidos pelo Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Micologia Veterinária (MicVet).

Para o preparo dos inóculos fúngicos foram utilizadas colônias jovens (48 horas de crescimento) que foram coletadas com auxílio de uma alça de platina, diluídas em água destilada estéril e homogeneizadas em vortex. Os inóculos foram padronizados primeiramente em escala de MacFarland 0,5 e tiveram a absorbância (entre 0,08 e 0,10) posteriormente aferida por aparelho de espectrofotômetro Quimis® com comprimento de onda da ordem de 530 nm.

A susceptibilidade das leveduras foi avaliada através do teste de microdiluição em caldo (CLSI M27-A2, 2007), com modificações, realizado em duplicata. As suspensões fúngicas foram diluídas em meio RPMI-1640 acrescido de 2% de glicose e MOPS. As placas de 96 micropoços foram preenchidas com meio de cultura RPMI-1640, com os inóculos fúngicos de *Candida* spp. e extrato aquoso de *Sclerotoderma citrinum* em concentrações que variaram de 50 a 1,56%. As suspensões fúngicas foram diluídas em meio RPMI-1640 acrescido de 2% de glicose e MOPS. As suspensões fúngicas (100 µl) foram adicionadas em todos os poços, incluindo no controle positivo. Para o controle negativo, somente as suspensões dos extratos de *S. citrinum* foram utilizados. As placas de micropoços foram incubadas a 35°C por 72h para leitura da Concentração Inibitória Mínima (CIM).

Após a leitura da CIM, foram semeadas aliquotas de 10µL de cada poço em meio sólido PDA (Potato Dextrose Agar) para leitura da Concentração Fungicida Mínima (CFM) realizada 48 horas após a semeadura.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A leitura da CIM demonstrou que dos 11 inóculos fúngicos utilizados, apenas um, identificado como espécie *Candida albicans* (ATCC 14053), apresentou sensibilidade ao extrato aquoso de *Sclerotoderma citrinum*.

Com relação à CFM, a leitura realizada 48 horas após a semeadura dos poços dessa cepa padrão demonstrou efeito fungicida do extrato de *S. citrinum* em todas as concentrações utilizadas. O que comprova a ação fúngicida do extrato de *S. citrinum* para essa cepa de *Candida albicans*.

O extrato de *S. citrinum* já se mostrou eficaz na inibição de bactérias na concentração de 3,75 mg/mL (LI et al., 2006).

A comprovação científica da eficácia dos produtos micoterápicos mediante a experimentação é fundamental para a consolidação e conservação desse conhecimento. Além de permitir a difusão e desmistificação dos conceitos estabelecidos bem como evitar o uso inapropriado e possíveis danos ou efeitos colaterais do uso de micoterápicos para homens e animais.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que o extrato aquoso do macromiceto *Sclerotoderma citrinum* possui ação antifúngica *in vitro* sobre *Candida albicans* (ATCC 14053). Esse

resultado demonstra o potencial promissor do uso dos extratos de macromicetos como antimicrobianos sendo necessária a continuidade das pesquisas relativas aos micoterápicos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLANCO, J. L.; GRACIA, M.E. Immune response to fungal infections. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 125, p.47-70, 2008.
- BRITO, E.H.S., FONTENELLE R.O.S., BRILHANTE S.N.R., CORDEIRO R.A., SIDRIM J.J.C., ROCHA, M.F.G.. Candidose na medicina veterinária: um enfoque micológico, clínico e terapêutico. **Ciência Rural**; 9(39): p.2655-2664. 2009.
- CASTRO, T. L., COUTINHO, H. D. M., GEDEON, C. C., SANTOS, J. M., SANTANA, W. J., & SOUZA, L. B. S. Mecanismos de resistência da Candida Sp. Wwa antifúngicos. **Infarma**, 18, 30-35. 2006.
- CLEFF MB, SOARES MP, MADRID IM, MEINERZ ARM, XAVIER MO, ALBANO APN, FONSECA AO, SILVEIRA E, MEIRELES MCA. Candidíase cutânea em *Cebus apella* (macaco-prego). **Ciência Animal Brasileira**. V. 9, n. 3, p. 791-795, 2008.
- CLSI. Development of in vitro susceptibility testing criteria and quality control parameters; approved standard, 3rd ed. CLSI document M27-A2. CLSI, Wayne, PA. 2007.
- COLOMBO, A. L., & GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 2003.
- CORTEZ, V. G., BASEIA, I. G., & SILVEIRA, R. M. B.. Gasteroid mycobiota of Rio Grande do Sul, Brazil: Boletales. **Journal of Yeast and Fungal Research**, 2(4), 44-52. 2011.
- LI, C. H. E. N., LI XIAO-MING, ZHANG AN-LING, DING HONG-RU; GAO JIN-MING. Preliminary Study on Bacteriostasis of Extractive of Basidiomycetes *Scleroderma Citrinum* [J]. **Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica**, 3. (2006).
- MATSUDA K, SAKAGUCHI K, KOBAYASHI S, TOMINAGA M, HIRAYAMA K, KADOSAWA T.. Systemic Candidiasis and Mesenteric Mast Cell Tumor with Multiple Metastases in a Dog. **Journal Veterinary Medicine Science** 2009; 2(71): 229–232
- MORESCO, G., MARTINELLO, F., & SOUZA, L. C.. Insuficiência renal aguda em paciente tratada com ATRA e anfotericina B: relato de caso. **J. bras. nefrol**, 33(2), 276-281. 2011.
- PEDRAZA VARGAS, H. Micoterapia: guía de hongos para la salud (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia) 2013.

SOYTONG, K.; SIBOUNNAVONG, P.; KANOKMEDHAKUL, K.; KANOKMEDHAKUL, S.. Biological active compounds of *Scleroderma citrinum* that inhibit plant pathogenic fungi. **Journal of Agricultural Technology**, 10, 79-86, 2014.

WEI, Y.; GAO, J.; HAO, S.; ZHANG, X.. Insecticidal activity of basidiomycete {\i sl *Scleroderma citrinum*}. **Acta Botanica Boreali - Occidentalia Sinica**, 25(2), 382-385. (2004).