

---

# Análise da atividade inibitória de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* sobre *Candida albicans*

Analysis of the inhibitory activity of *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* on *Candida albicans*

GALVÃO, Karen Cristine Santos 1  
SANTOS, Silvana Soléo Ferreira dos 2

LEÃO, Mariella Vieira Pereira 3

SILVA, Célia Regina Gonçalves e 4

1, 2, 3, 4 - Universidade de Taubaté

Campus do Bom Conselho, Taubaté-SP

Autor para correspondência: karen cristine13@gmail.com

Recebido em 4 de agosto de 2010; aceito em 10 de novembro de 2010.

## Resumo

Leveduras do gênero *Candida*, principalmente *C. albicans*, são responsáveis por infecções em humanos, principalmente em indivíduos com comprometimento do sistema imunológico. Sendo assim, a busca por substâncias que apresentem efeito inibitório sobre estes microrganismos é cada vez maior. O objetivo deste estudo foi analisar a capacidade inibitória de extratos aquosos de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* sobre *Candida albicans*. Extratos aquosos de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* foram obtidos a partir de suco integral, suco clarificado e mucilagem, além de casca, película interna e semente, in natura e após secagem. A cada extrato foi adicionado ágar Müller-Hinton, obtendo-se meios com 20% de *Passiflora* (método de diluição em ágar). Também foram preparados meios que tiveram o pH acertado para 7,0, e sem a adição de extratos (controle do crescimento). Somente os extratos de semente in natura e casca seca inibiram 8 e 16% das cepas, respectivamente, porém somente em pH ácido. Os resultados demonstraram que extratos aquosos de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* apresentaram pouco efeito inibitório sobre *Candida albicans*.

**Palavras-chave:** maracujá, *Passiflora*, antifúngico, fitoterapia.

## Abstract

Yeasts of class *Candida*, specially *C. albicans* are responsible of humans infections, particularly with people with immunologic system commitment, because of this, the research for new substances with inhibitory potential of this microorganisms is bigger. The objective of this research was analyzing the inhibitory potential of aqueous extracts of *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* on *Candida albicans*. Aqueous extracts of *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* were obtained from juices and mucilage, besides bark, internal film and seed, in natura and after drying. For each extract Müller-Hinton agar was added obtaining culture medium with 20% of *Passiflora* (agar dilution method). Mediums which had the pH adjusted to 7, and without extracts (growth control) were also prepared. Only in natura seed extracts and dry peel inhibited 8 and 16% of the strains, respectively, but in acid pH. The results showed that aqueous extracts of *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* presented little inhibitory effect against *Candida albicans*.

**Key-words:** passion fruit, *Passiflora*, antifungal, phytotherapy.

## I. Introdução

O maracujá foi a primeira fruta silvestre que os descobridores notaram na América, ficou conhecido como fruta da paixão devido ao formato de suas flores que segundo os religiosos que a encontraram, lembravam a paixão de Cristo. Os indígenas de origem Tupi a chamaram maracujá, que significa "alimento em forma de cuia" (MARTINS et al., 2005). É utilizado como planta medicinal há muitos anos por povos americanos, europeus e asiáticos, além de possuir diversas propriedades nutritivas no suco e na polpa. O Brasil vem ganhando destaque no ranking mundial na produção de maracujá, e dentre as espécies existentes, a *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*, conhecida como maracujá amarelo ou maracujá azedo, é a mais comercializada na forma de sucos. É nativa da Amazônia e se adapta a países de clima tropical (FALEIRO et al., 2005).

A ocorrência de leveduras do gênero *Candida* pode ser observada na microbiota residente humana. *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. kefir*, *C. glabrata* e *C. parapsilosis* podem ser isoladas das superfícies mucosas

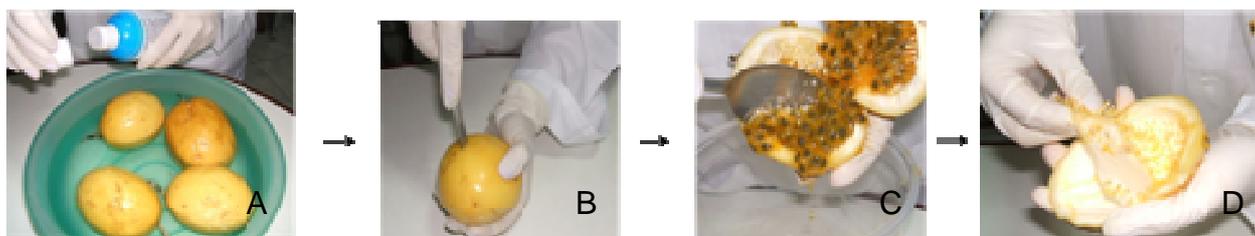
sadias da cavidade bucal, vagina, trato gastrointestinal e região retal. Até 80% dos indivíduos podem exibir colonização desses locais na ausência de doença. No entanto, a condição debilitada do hospedeiro pode levar a processos infecciosos, sendo por este motivo denominado de fungos oportunistas. Podem causar tromboflebite, endocardite, infecções oculares ou em qualquer órgão ou tecido quando introduzida por via intravenosa (BASSETTI et al., 2006; CAPOOR et al., 2005; LAUPLAND et al., 2005). *C. albicans* é considerada a espécie do gênero *Candida* mais frequentemente isolada e a que apresenta mais fatores de virulência (GRIMOUD et al., 2003; FIGUEIREDO et al., 2005; JORGE et al., 1997; ZOLLNER; JORGE, 2003). Com o crescimento da população imunocomprometida observada ao longo dos anos e o uso cada vez mais freqüente de profilaxia e tratamento empírico com antifúngicos a resistência a esses agentes terapêuticos vem aumentando, fato que reforça a importância de encontrar novas substâncias com capacidade inibitória, para esses microrganismos.

O objetivo do presente trabalho foi analisar a atividade antimicrobiana de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* sobre *Candida albicans*.

## II. Metodologia

Quatro quilos e meio de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* (maracujá azedo) foram adquiridos do Sítio São Sebastião, Natividade da Serra, São Paulo, produtor Hélio Marcondes de Castro, solo pH 4,7. As frutas foram lavadas em água corrente com auxílio de escova, higienizadas em solução de hipoclorito de sódio (200ppm) por 15 minutos e enxaguadas em água corrente para a remoção de resíduos de hipoclorito.

Depois de higienizados, os frutos foram cortados e suas frações separadas em Becker esterilizado (Figura 1).

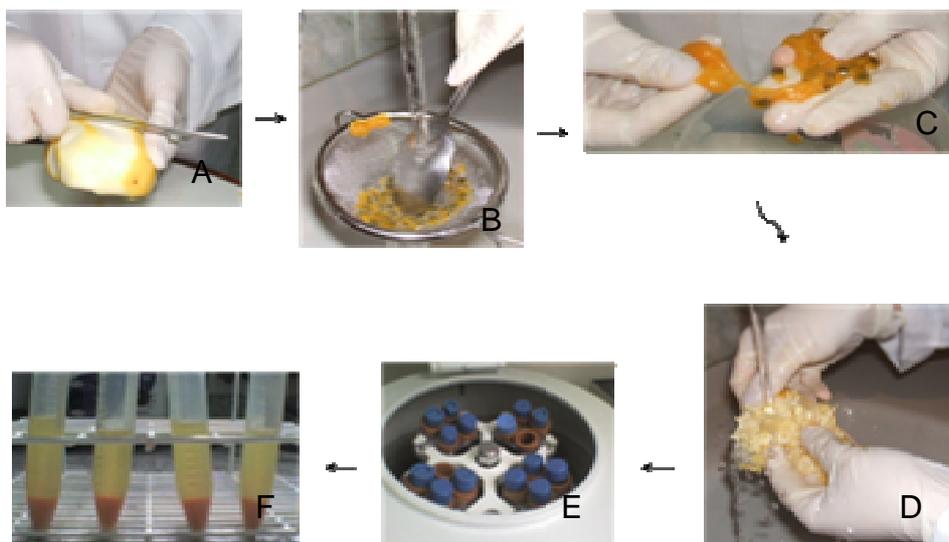


**Figura 1** - higienização (A) e separação das frações de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* (B- casca, C- polpa e D- película interna).

Com auxílio de uma colher esterilizada foi removida a parte interna e a película e com uma faca esterilizada os frutos foram descascados, separando-se a parte interna da casca.

Metade das sementes, casca e película interna foram lavadas em água corrente, secas em estufa a 45°C por cinco dias e o restante congelado.

A mucilagem foi retirada manualmente (com luva) da polpa e a película interna lavada em água corrente. Com uma peneira de metal esterilizada separou-se o suco, sendo metade congelado e o restante clarificado por centrifugação a 3200rpm durante 15 minutos. O sobrenadante foi retirado com auxílio de pipeta esterilizada e congelado (integral) para posterior utilização (Figura 2).



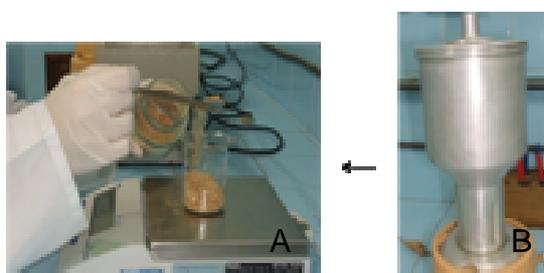
**Figura 2** - Separação da mucilagem (A), polpa (BeC) e a película interna (D), lavagem da película interna em água corrente (D), centrifugação do suco (E) e suco já centrifugado (F).

A parte interna da casca foi pesada (1,5kg), triturada em liquidificador industrial (Mersen, Campinas, São Paulo), colocada em recipiente de metal com um litro de água destilada e 3mL de ácido cítrico a 3%. Em seguida foi levada ao fogo e permaneceu em fervura por 30 minutos, agitando-se continuamente. Depois de atingir temperatura ambiente, foi apertada em tecido de algodão para a retirada da pectina, sendo utilizado somente o resíduo restante no tecido (Figura 3).



**Figura 3** - Procedimento para a retirada da mucilagem a partir da parte interna da casca de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*. Em A: fervura e em B: retirada da pectina

Para cada parte retirada do fruto, 50g foram misturadas, em liquidificador esterilizado, em 250mL de água destilada. A mistura foi colocada em vidro âmbar e esterilizada em autoclave 121°C por 15 minutos. Os extratos foram agitados durante 3 minutos por dia, por 3 dias e mantido sob refrigeração.



**Figura 4** - Pesagem de cada parte do fruto (A) e homogeneização com água em liquidificador para preparo do extrato aquoso (B)

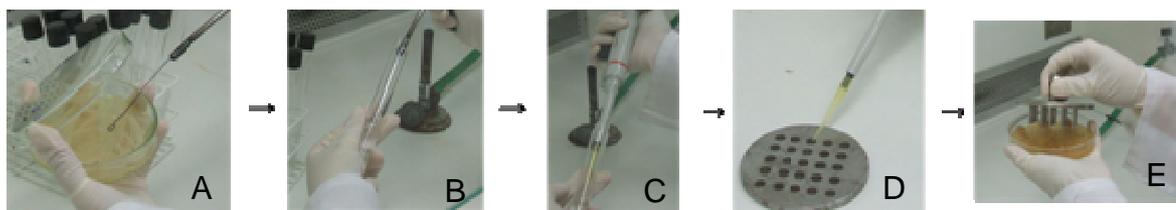
A cada 20mL dos extratos foram adicionados 0,76g de agar Müller-Hinton (método de diluição em ágar), medidos o pH, esterilizados em autoclave e plaqueados (em duplicata).

O mesmo procedimento foi repetido adicionando-se tampão de hidróxido de sódio (NaOH com pH 9,0) até que cada mistura atingisse pH 7,0, para controle da acidez do meio, pois a acidez é um meio de inibição de crescimento e poderia interferir nos testes realizados.

Foram ainda preparados meios sem adição de extratos para controle positivo do crescimento microbiano.

Cepas de *Candida albicans* oriundas da coleção de culturas da Universidade de Taubaté (CCUT) foram reativadas em agar BHI e após incubação por 24h a 37°C, para cada cepa foi preparada uma suspensão em 10mL de solução salina (NaCl a 0,9%) esterilizada, compatível ao padrão 0,5 da escala de McFarland (aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  cels/ml).

Com auxílio de pipeta automática, as suspensões foram transferidas para um replicador de *Steers* para serem semeadas nas placas previamente preparadas (Figura 5).



**Figura 5** – Preparo da suspensão a partir de uma cultura de 24h de *C. albicans* (A e B), transferência da suspensão para o replicador de *Steers* (C e D) e semeadura em meio contendo extrato aquoso de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* (E).

Depois de incubadas a 37°C por 24h, a leitura foi realizada observando-se a presença ou ausência de crescimento no meio.

### III. Resultados

Foi observado crescimento de todas as cepas nos meios sem adição dos extratos.

O suco integral, mucilagem e suco clarificado de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa in natura*, sem a mudança do pH, não puderam ser testados pois não houve solidificação dos meios preparados a partir deles, pois provavelmente o decréscimo do pH diminui a força de gel do ágar e a concentração de açúcar diminui sua coesão (Agar...). O pH apresentado pelas misturas antes do acerto era próximo de 4,0.

O extrato aquoso de resíduo interno da casca não precisou de correção do pH, pois apresentou pH 7,0.

Cepas de *C. albicans* foram inibidas somente quando utilizados os extratos aquosos da semente *in natura* (Tabela 1) e da casca seca de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* (Tabela 2), ambos sem acerto de pH.

**Tabela 1** - Porcentagem de inibição de *Candida albicans* por extratos aquosos de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa in natura*.

Extrato aquoso	pH	% de cepas inibidas
Casca	6,5	0
Casca	7,0	0
Semente	4,0	8
Semente	7,0	0
Suco clarificado	7,0	0
Suco integral	7,0	0
Mucilagem	7,0	0
Película interna	4,0	0
Película interna	7,0	0
Resíduo interno da casca	7,0	0

**Tabela 2** - Porcentagem de inibição de *Candida albicans* por extratos aquosos de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* seca.

Extrato	pH	% de cepas inibidas
Casca	4,0	16
Casca	7,0	0
Semente	4,0	0
Semente	7,0	0
Película interna	4,0	0
Película interna	7,0	0

#### IV. Discussão

Algumas cepas de *C. albicans* foram inibidas pelos extratos aquosos de semente *in natura* e casca seca de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*, mas somente em pH ácido, o que demonstra claramente a inibição pelo pH e não pelos extratos, porém como este microrganismo foi capaz de crescer em outros meios ácidos (pH 4,0) obtidos a partir de outros extratos, como película interna e semente seca, pode-se supor que não foi somente a acidez do meio que inibiu estas cepas. Provavelmente os extratos contenham alguma substância com pequeno potencial inibitório. Também se deve considerar a possibilidade de existência de compostos com maiores potenciais inibitórios que não possam ser extraídos pela água.

Agizzio et al. (2003) realizaram estudos sobre a atividade antifúngica de proteínas das sementes de maracujá sobre *Fusarium oxysporum*, e demonstraram o efeito inibitório das proteínas do grupo S1 e S2 do extrato total, que também demonstraram capacidade de inibir a acidificação do meio pelas células fúngicas. Tais proteínas também foram capazes de modificar a morfologia da ATPase dos fungos, além de alterar a permeabilidade da membrana plasmática.

Pelegrini et al. (2006) compararam proteínas encontradas em diversas plantas com as proteínas presentes na semente de *Passiflora edulis*. Diversas proteínas possuem efeitos antifúngicos, porém uma classe é citada em especial, os peptídeos de defesa e armazenamento 2S. O estudo demonstrou a existência de um novo peptídeo 2S, o PE-AFP1, não alergênico e efetivo contra duas bactérias patogênicas, *Klebsiella* spp. e *Proteus* spp.. Os autores também não encontraram na proteína efeito inibitório sobre *Candida albicans*.

Nicolls et al. (1973) e Mohanasundari et al. (2007) observaram inibição de bactérias Gram positivas com a polpa de *Passiflora edulis* devido à presença de uma substância chamada Passicol, no entanto a mesma não demonstrou nenhuma inibição em relação às bactérias Gram negativas. No presente estudo não foi observada inibição de *C. albicans* por todos os extratos aquosos, o que indica a possibilidade de diferentes partes da fruta possuir substâncias com atividade inibitória para este microrganismo que podem ser extraídas pela água.

Assim como Nicolls et al. (1973) e Mohanasundari et al. (2007), Meléndez e Capriles (2006) usaram extratos de folhas de diversas plantas e verificaram atividade inibitória sobre quatorze espécies, especialmente *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, porém o extrato de *Passiflora edulis* Sims não demonstrou efeito inibitório, o que indica possivelmente, que as substâncias antimicrobianas estejam apenas em algumas partes da planta.

Portanto os estudos de Agizzio et al. (2003) e Pelegrini et al. (2006) indicam a possibilidade das proteínas do maracujá ser efetivas apenas em fungos filamentosos.

Novos estudos utilizando outras formas de extração dos compostos de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* devem ser realizados para que se exclua a possibilidade de existência de efeito inibitório sobre *Candida albicans*.

#### V. Conclusão

Extratos aquosos de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* demonstraram pouco efeito inibitório sobre *Candida albicans*.

## VI. Referências

- AGAR ou Agar-Agar. Aditivos e Ingredientes. Disponível em:  
<[http://www.insumos.com.br/aditivos\\_e\\_ingredientes/materias/87.pdf](http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/87.pdf)>. Acesso em: 26 de abr. 2010.
- AGIZZIO, A.P. et al. A 2S albumin-homologous protein from passion fruit seeds inhibits the fungal growth and acidification of the medium by *Fusarium oxysporum*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 416, p. 188-195, 2003.
- BASSETTI, M. et al. Epidemiological trends in nosocomial candidemia in intensive care. *BMC Infect Dis*, v.10, n. 6, p.6-21, 2006.
- CAPoor, M.R. et al. Emergence of non-albicans *Candida* species and antifungal resistance in tertiary care hospital. *Jpn J Infect Dis*, v.58, n.6, p.8-344, 2005.
- FALEIRO, F. G. et al. *Maracujá, germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina - DF: Embrapa Cerrados, 2005.
- FIGUEIREDO, R.L.Q. et al. Estudo microbiológico da prevalência de enterobactérias na cavidade bucal de pacientes HIV positivos e sua relação com o gênero *Candida*. *J Bras Clin Est Odontol*, v.5, n.6, p. 111-115, 2001.
- GRIMOUD, A.M. et al. Colonization of the oral cavity by *Candida* species: risk factors in long-term geriatric care. *J Oral Sci*, v.45, p. 51-55, n.1, 2003.
- JORGE, A.O.C. et al. Presença de leveduras do gênero *Candida* na saliva de pacientes com diferentes fatores predisponentes e de indivíduos controle. *Rev Odontol Univ*, São Paulo, v.11, n.4, p.85-279, 1997.
- LAUPLAND, K.B. et al. Invasive *Candida* species infections: a 5 year population-based assessment. *J Antimicrob Chemother*, v.56, n.3, p.532-537, 2005.
- MARTINS, L. et al. Conservação de sementes de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* SIMS F. flavicarpa DEG). *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 27, n. 1, p. 183-188, 2005.
- MELÉNDEZ, P.A. ; CAPRILES, V.A. Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico. *Phytomedicine*, v.13, p. 272-276, 2006.
- MOHANASUNDARY, C. et al. Antibacterial properties of *Passiflora foetida* L. – a common exotic medicinal plant. *African Journal of Biotechnology*, v. 6, n. 23, p. 2650-2653, Dec. 2007.
- NICOLLS, J.M. et al. Passicol, an Antibacterial and Antifungal Agent Produced by *Passiflora* Plant Species: Qualitative and Quantitative Range of Activity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 3, n. 1, p. 110-117, Jan., 1973.
- PELEGRINI, P. B. et al. An antifungal peptide from passion fruit (*Passiflora edulis*) seeds with similarities to S2 albumin proteins. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1764, p. 1141-1146, 2006.
- ZÖLLNER, M.S.C; JORGE, A.O.C. *Candida* spp. occurrence in oral cavities of breastfeeding infants and their mother's mouths and breasts. *Braz Oral Res*, v.17, n.2, 2003.