



Efeito antifúngico de extratos vegetais contra leveduras do complexo *Cryptococcus*

Bruna Wortmann, Lucélia Santi

Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS – Brasil.

e-mail: brunawortmann@hotmail.com

INTRODUÇÃO

O complexo *Cryptococcus* contempla uma variedade de leveduras basidiomicéticas, dentre as quais estão *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*. Esses organismos são os agentes causadores da criptococose, uma doença global, que acomete tanto indivíduos imunocomprometidos quanto imunocompetentes, gerando quadros de pneumonia e meningite, podendo levar à morte. Estes microrganismos podem persistir no hospedeiro por longos períodos, resistindo às terapias antifúngicas existentes e ao sistema imune do hospedeiro. Desta forma, a busca por moléculas com atividade antifúngica se faz necessária, especialmente pelo surgimento de isolados resistentes aos tratamentos convencionais. Assim sendo, se correlacionou ao alto potencial da biodiversidade brasileira em ser explorada a fim de buscar por novas moléculas que possam ser utilizados para profilaxia e terapia antifúngica.

OBJETIVOS

- Avaliar diferentes extratos vegetais quanto a atividade antifúngica contra *Cryptococcus* spp.
- Isolar a molécula com atividade antifúngica
- Identificar o possível mecanismo de ação

METODOLOGIA

Manutenção e cultivo dos microrganismos: *C. gattii* (R265 e R272), *C. neoformans* var. *grubii* (H99) e *C. neoformans* var. *neoformans* (B3501) foram cultivados e mantidos em meio Sabouraud (2% glicose, 1% peptona) a 37 °C.

Produção de extratos vegetais: Foram preparados extratos de flores de uma planta do bioma Amazônia: alcoólico (1:5, w:v) – EEAO, e deste, uma partição com hexano foi realizada – EHAO. As amostras foram dissolvidas em DMSO para realização dos experimentos.

Determinação da concentração inibitória mínima (CIM): A CIM foi feita pelo método de microdiluição, conforme estabelecido pelo CLSI, norma M27-A2 (2002). Os experimentos foram realizados em oito replicatas, sendo repetidos pelo menos duas vezes. A atividade fungicida ou fungistática foi avaliada através do teste de gota: 10µL da CIM, 1/2 CIM e controle foram inoculadas em placas de meio Sabouraud e mantidas por até 48h em estufa a 37°C.

Caracterização da atividade antifúngica:

1. Extravasamento intracelular: Células de *C. gattii* R265 foram divididas em 4 grupos: controle (PBS), ½ CIM, fluconazol e mortas por calor, conforme metodologia descrita previamente (Vasireddy et al. 2018). Os frascos foram incubados por diferentes tempos a 35 °C. A porcentagem do conteúdo de extravasamento intracelular foi analisado com base nas absorbâncias obtidas (A260) em relação às células mortas.

RESULTADOS

Tabela 1. Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos EHAO e EEAO contra leveduras do gênero *Cryptococcus* spp.

Espécie		EHAO	EEAO
<i>C. gattii</i>	R265	**100 µg/mL	**100 µg/mL
	R272	*25 µg/mL	**100 µg/mL
<i>C. neoformans</i> var. <i>grubii</i>	H99	**100 µg/mL	*50 µg/mL
<i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	B3501	*50 µg/mL	*50 µg/mL

* Fungistático ** Fungicida

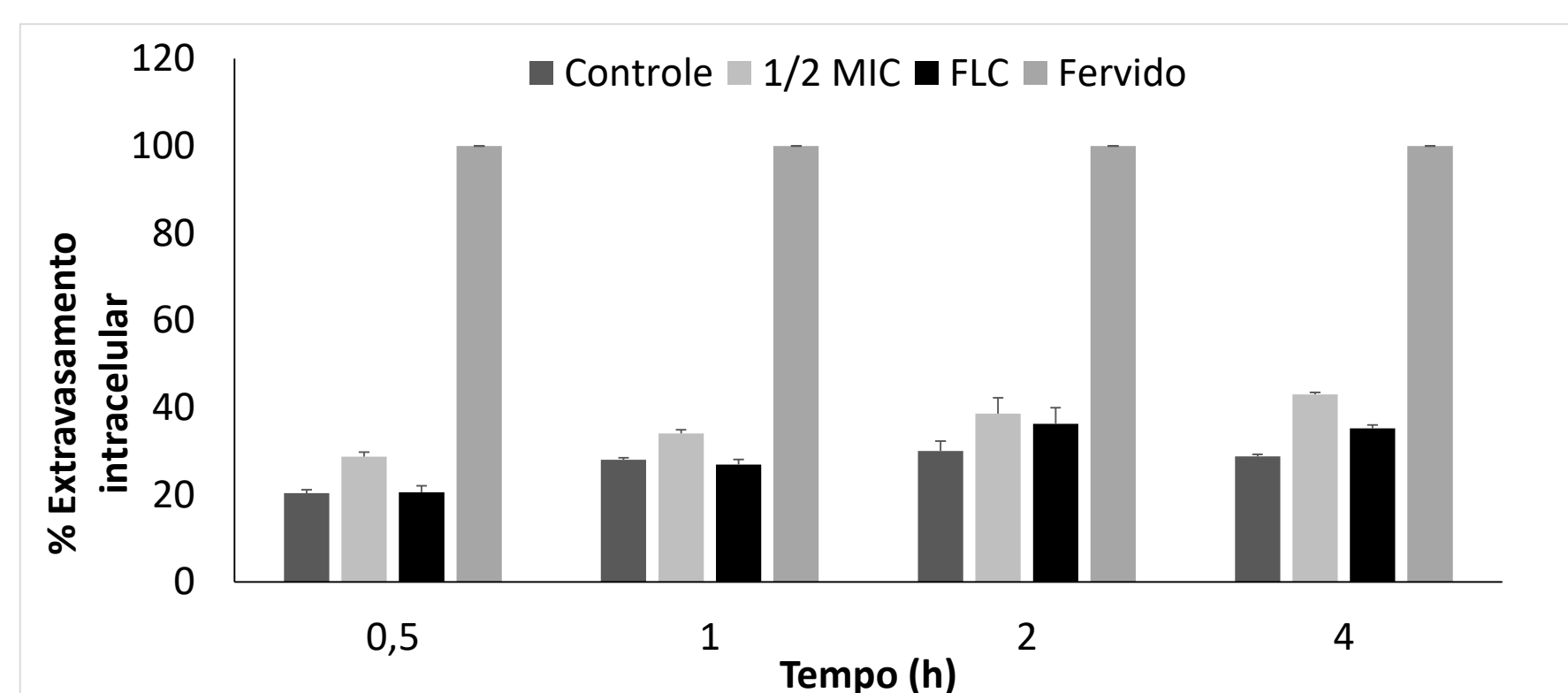


Figura 1. Porcentagem de extravasamento intracelular de *C. gattii* (R265) induzido pelo extrato EEAO.

CONCLUSÃO

Até o momento, dois extratos apresentaram atividade antifúngica contra quatro isolados do complexo *Cryptococcus*, com variações de CIM de 25-100 µg/mL. Além disso, o extrato EEAO parece não causar danos à parede celular. Como perspectivas pretendemos identificar e isolar a molécula com atividade antifúngica e caracterizar o mecanismo de ação da mesma.