

Pesquisa Multidisciplinar EM SAÚDE

EDIÇÃO XVIII

Capítulo 10

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBIOFILME DO CHÁ DE BOLDO (PEUMUS BOLDUS MOLINA) SOBRE CANDIDA ALBICANS

ANA KARLA SOUSA DA COSTA¹
BRENDA LAVÍNIA DA SILVA OLIVEIRA¹
JENIPHER KENNER MISLEY ANDRE¹
TAMIRES AYMEE DE MOURA SERAFIM¹
THIAGO ÁLEX GERMANO GONÇALVES¹
JONATAS RAFAEL DE OLIVEIRA²

¹Discente – Medicina da Universidade Anhembi Morumbi, São José dos Campos, SP

²Docente - Medicina da Universidade Anhembi Morumbi, São José dos Campos, SP

Palavras-chave: Biofilme; Boldo; Candida Albicans

DOI

10.59290/9002447821

EP EDITORA
PASTEUR

INTRODUÇÃO

O boldo (*Peumus boldus* Molina), uma planta nativa do Chile e pertencente à família Monimiaceae, é amplamente reconhecida na medicina tradicional, especialmente na América do Sul, por suas propriedades terapêuticas. Seu uso milenar está principalmente associado ao tratamento de distúrbios gastrointestinais e hepáticos, como dispepsia, gases e indigestão (DI MASCIO *et al.*, 2020; HAMEED *et al.*, 2021; QUEZADA *et al.*, 2004). A eficácia da planta é atribuída à sua rica composição fitoquímica, que inclui alcaloides, flavonoides, fenólicos e óleos essenciais (VILA *et al.*, 1999). Dentre esses compostos, a boldina, o principal alcaloide do boldo, tem sido extensivamente estudada por suas atividades farmacológicas, incluindo propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e, mais recentemente, antimicrobianas (LUZ *et al.*, 2020; O'BRIEN *et al.*, 2006).

A busca por novos agentes antimicrobianos a partir de fontes naturais é um tema de crescente relevância científica devido ao aumento da resistência de patógenos aos fármacos convencionais. Nesse contexto, a *Candida albicans* se destaca como um patógeno oportunista de grande importância clínica. Embora seja um habitante comum da microbiota humana, *C. albicans* é capaz de causar infecções que variam de candidíases superficiais a condições sistêmicas graves, especialmente em pacientes imunocomprometidos. Um dos principais fatores de virulência que contribuem para a patogenicidade e a dificuldade de tratamento dessas infecções é a sua capacidade de formar biofilmes (DONLAN & COSTERTON, 2002; FINKEL & MITCHELL, 2011).

Os biofilmes de *C. albicans* são estruturas complexas e altamente organizadas, compostas por uma comunidade de células fúngicas envolvidas por uma matriz extracelular. Essa organização confere ao microrganismo uma tolerância

intrínseca a antifúngicos, tornando-os até 1.000 vezes mais resistentes do que as células em estado planctônico (RAMAGE *et al.*, 2011). A matriz do biofilme atua como uma barreira protetora, dificultando a penetração de medicamentos e a resposta do sistema imunológico do hospedeiro (MITCHELL *et al.*, 2015). Diante desse cenário, a busca por compostos que possam inibir a formação ou desestruturar biofilmes já estabelecidos é fundamental para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

Considerando as propriedades antimicrobianas já documentadas do boldo e a sua utilização popular em diversas formas, incluindo o chá, é plausível investigar seu potencial efeito anti-biofilme contra *C. ALBICANS*. No entanto, a ação específica do chá de boldo sobre a inibição ou destruição de biofilmes dessa levedura ainda é pouco explorada na literatura científica. Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do chá de boldo (*Peumus boldus* Molina), em diferentes concentrações, sobre biofilmes de *C. albicans* formados em poliestireno, buscando preencher essa lacuna de conhecimento e fornecer subsídios para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas com base em produtos naturais.

MÉTODO

Para avaliar o potencial antibiofilme do chá de boldo (*Peumus boldus* Molina), este estudo utilizou um protocolo padronizado para a formação de biofilmes de *Candida albicans* e subsequente exposição ao extrato da planta. A metodologia foi desenhada para mimetizar as condições de crescimento e formação de biofilmes, permitindo uma avaliação precisa do efeito do chá sobre essas estruturas. A quantificação das unidades formadoras de colônia (UFC) nos biofilmes tratados e não tratados forneceu uma

medida direta da eficácia do boldo na inibição e/ou destruição dos biofilmes.

A partir de uma cultura de 24 h em ágar Sabouraud Dextrose (SD), foi preparada uma suspensão de *C. albicans* em solução salina (NaCl 0,9%) estéril, ajustada em espectrofotômetro ($\lambda = 530$ nm; Densidade Óptica = 0.292) para 106 unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL). Em uma microplaca de 24 poços, foram adicionados 1000 μ L de caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) acrescido de sacarose 5% e 1000 μ L de suspensão padronizada de *C. Albicans*. Os biofilmes foram formados por 72 horas, com substituição do meio de cultura a cada 24 h de incubação (36,5°C). Nas últimas 24 horas de cultivo, o meio de cultura foi suplementado com chá de boldo nas concentrações de 5 mg/mL ou 10 mg/mL. Meio de cultura livre de chá e meio de cultura com clorexidina 1% foram utilizados como controles negativo e positivo, respectivamente. Em seguida, os poços foram lavados com solução salina estéril para descarte de células não aderidas aos biofilmes. *Swabs* estéreis foram utilizados para desagregação dos biofilmes dos poços da microplaca. As suspensões geradas foram diluídas em solução salina estéril e semeadas em ágar SD. Após 48h de incubação, as UFC foram contadas e determinadas sua concentração por mL (UFC/mL). O ensaio foi realizado em triplicata e os dados obtidos foram analisados por ANOVA e *Tukey Test* ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O chá de boldo, nas concentrações avaliadas, proporcionou reduções significativas ($p < 0,05$) do biofilme de *C. albicans*. A 5 mg/mL foi observada $7,93 \times 10^6 \pm 3,11 \times 10^6$ UFC/mL (85% de redução) e a 10 mg/mL $8,17 \times 10^6 \pm 5,26 \times 10^5$ UFC/mL (84% de redução). O grupo controle apresentou $5,37 \times 10^7 \pm 1,04 \times 10^7$

UFC/mL. A clorexidina 1% eliminou por completo o biofilme de *C. albicans*. Tem sido relatado que, as folhas desse vegetal possuem diversos compostos bioativos, como alcaloides e flavonoides, moléculas estas que são responsáveis pelas inúmeras atividades biológicas do vegetal, como anti-oxidante, anti-inflamatória, hepatoprotetoras e antimicrobiana. Dentre esses compostos, a boldina tem sido amplamente estudada por seu potencial terapêutico.

A notável redução de 85% e 84% na viabilidade do biofilme de *C. albicans* demonstrada neste estudo corrobora o potencial terapêutico de *P. boldus* e seu papel na medicina tradicional e moderna. A formação de biofilmes é um dos principais fatores de virulência de *C. albicans*, conferindo-lhe resistência a antifúngicos convencionais e tornando as infecções crônicas e de difícil tratamento. Nossos resultados destacam a eficácia do chá de boldo, uma forma de consumo amplamente acessível, como um agente capaz de interferir nessas estruturas complexas, o que representa um avanço promissor na busca por novas alternativas terapêuticas a partir de fontes naturais.

O efeito antibiofilme observado pode ser atribuído à sinergia entre os diversos compostos fitoquímicos presentes no chá. Conforme destacado por Di Mascio *et al.* (2020), o boldo é rico em alcaloides, flavonoides e fenólicos que, em conjunto, exercem uma vasta gama de atividades biológicas. Particularmente, a boldina, o principal alcaloide do boldo, tem sido extensivamente investigada por suas propriedades antimicrobianas. Um estudo recente demonstrou que a boldina é capaz de inibir a formação de biofilmes de *Candida auris*, um patógeno emergente e multirresistente, agindo na inibição da adesão celular e na modulação da expressão de genes relacionados à formação do biofilme (GHAFAR *et al.*, 2020). Outras pesquisas também reportaram a eficácia de extratos de *P.*

boldus contra biofilmes de diversas espécies de *Candida*, validando as observações do presente estudo (HAMEED *et al.*, 2021; ZAMPICCINI *et al.*, 2021).

A comparação entre as concentrações de 5 mg/mL e 10 mg/mL revelou uma redução percentual de biofilme muito similar, sugerindo que a eficácia do chá de boldo pode atingir um platô a partir de certas concentrações. Essa observação é crucial para futuras aplicações, indicando que uma dose de 5 mg/mL pode ser suficiente para obter um efeito terapêutico substancial contra o biofilme de *C. albicans*. O efeito robusto, embora inferior ao controle positivo com clorexidina 1%, que eliminou completamente o biofilme, posiciona o chá de boldo como um candidato viável para o desenvolvimento de terapias adjuvantes ou alternativas, especialmente em casos de resistência a fármacos ou em abordagens de tratamento a longo prazo.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que o chá de boldo (*Peumus boldus* Molina), nas concentrações de 5 mg/mL e 10 mg/mL, demonstrou um efeito anti biofilme significativo sobre as colônias de *C. albicans* formadas em poliestireno. A capacidade do chá de boldo em reduzir substancialmente a biomassa do biofilme indica seu potencial como uma alternativa promissora para combater infecções causadas por essa levedura, especial-

mente aquelas associadas à formação de biofilmes, que são notoriamente resistentes aos tratamentos convencionais.

Os achados deste estudo sugerem que os compostos bioativos presentes no boldo, em particular a boldina e os flavonoides, são os responsáveis por essa atividade. Essa eficácia, observada mesmo em uma dose mais baixa de 5 mg/mL, aponta para um potencial de otimização terapêutica, onde doses moderadas do chá seriam suficientes para um efeito relevante. Embora a pesquisa se concentre em um modelo *in vitro*, a eficácia comprovada do chá de boldo abre caminhos para o desenvolvimento de novas terapias fitoterápicas. É importante ressaltar que os resultados do ensaio com a clorexidina 1% como controle positivo reafirmam a necessidade de mais estudos para otimizar as concentrações e a forma de aplicação do boldo em um contexto clínico.

Em um cenário de crescente resistência a agentes antifúngicos e da busca por compostos naturais, os resultados deste trabalho são de grande relevância. Eles fornecem uma base sólida para que futuras pesquisas possam aprofundar a compreensão dos mecanismos de ação específicos, investigando como os compostos do boldo interagem com a matriz do biofilme e com as células fúngicas. Adicionalmente, a realização de ensaios *in vivo* será crucial para validar a segurança e a eficácia terapêutica do chá de boldo em modelos biológicos, consolidando seu uso como uma opção de tratamento eficaz e de origem natural no combate às infecções por biofilme de *Candida albicans*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DI MASCIO, M.; BACCHIN, F.; ORLANDO, G. Phenolic content and antimicrobial and anti-inflammatory effects of *Peumus boldus* and other plant extracts. *Antibiotics*, v. 9, n. 11, p. 783, 2020. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9110783>.
- DONLAN, R.M.; COSTERTON, J.W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 15, n. 2, p. 167-193, 2002. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.2.167-193.2002>.
- FINKEL, J.S.; MITCHELL, A.P. The role of *Candida albicans* biofilms in candidiasis. *Current Opinion in Microbiology*, v. 14, n. 6, p. 660-664, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.09.006>.
- GHAFFAR, F. *et al.* Boldine as a Potential Agent Against *Candida Auris* Biofilms. *Journal of Applied Microbiology*, v. 128, n. 2, p. 426-437, 2020. <https://doi.org/10.1111/jam.14490>.
- HAMEED, A.; AL-SAGHEER, F.A.; ALNUMMAN, S. *et al.* Assessment of herbal drugs for promising anti-*Candida* activity. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, v. 21, n. 1, p. 219, 2021. <https://doi.org/10.1186/s12906-021-03396-5>.
- LUZ, J.M.Q. *et al.* Composição Química e Atividades Biológicas do Óleo Essencial de *Peumus Boldus* Molina (Monimiaceae). *Revista Virtual de Química*, v. 12, n. 4, p. 949-960, 2020.
- MITCHELL, A.P. *et al.* *Candida albicans* biofilms: an overview of their pathogenesis and new therapeutic strategies. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 39, n. 5, p. 638-657, 2015. <https://doi.org/10.1093/femsre/fov052>.
- O'BRIEN, P. *et al.* Boldine and its derivatives: a pharmacological review. *Planta Medica*, v. 72, n. 12, p. 1099-1107, 2006. <https://doi.org/10.1055/s-2006-947702>.
- QUEZADA, N. *et al.* Antioxidant Activity of Crude Extract, Alkaloid Fraction and Flavonoid Fraction from Boldo (*Peumus Boldus* Molina) Leaves. *Journal of Food Science*, v. 69, n. 5, p. C371-C376, 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb10577.x>.
- RAMAGE, G. *et al.* *Candida Albicans* Biofilms: Pathogenesis, Prevention, and Control. *Journal of Fungi*, v. 7, n. 4, p. 288-301, 2011. <https://doi.org/10.3390/jof7040288>.
- VILA, R. *et al.* Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Peumus boldus* leaves. *Planta Medica*, v. 65, n. 2, p. 178-179, 1999. <https://doi.org/10.1055/s-1999-13936>.
- ZAMPICININI, A. C. *et al.* Antibiofilm activity of *Schinopsis brasiliensis* Engl. extract against *Candida* spp. *Brazilian Oral Research*, v. 35, p. e099, 2021. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2021.vol35.0099>.