Avaliação *in vitro* da atividade inibitória de extratos de *Camellia sinensis* e *Malva sylvestris* sobre a filamentação de *Candida albicans*

Gustavo Matheus Laureano da Silva[1,2], Ana Beatriz Furtado Rodrigues[1,2], Cristina del Valle Araos Graterol[2], João Pedro de Paiva[2], Ullrich Aleixo[2], Vitor Martins de Andrade[1,2].

[1]Universidade Federal de São Paulo. Instituto de Ciência e Tecnologia, Rua Talim, 330, Vila Nair - 12231-280 - São José dos Campos - SP, Brasil.
[2]Centro Universitário Internacional - UNINTER, Rua Santa Clara, 417, Vila Adyana - 12243-630 - São José dos Campos - SP, Brasil.
gustavomathlsilva@gmail.com, beatrizrodrigues.abfr@gmail.com, lic.cristina.araos@gmail.com, joaopedropaiva2006@gmail.com, mvullrich13@gmail.com, vitor.andrade@unifesp.br

Resumo
A transição morfológica de levedura para hifa é o principal fator de virulência da *Candida albicans*, favorecendo a invasão tecidual e a resistência aos antifúngicos convencionais. Este estudo in vitro avaliou a capacidade de extratos aquosos de *Camellia sinensis* (chás verde, preto e oolong) e *Malva sylvestris* de suprimir a filamentação da cepa SC5314. Os ensaios utilizaram soro fetal bovino a 10% como indutor morfológico, quantificando a inibição através de microscopia óptica e sistema de escores em concentrações de 1x e 10x dos fitoterápicos. Os resultados revelaram que a *Malva sylvestris* possui o maior potencial antivirulência, suprimindo drasticamente a formação de hifas em ambas as concentrações. Entre os chás, o preto demonstrou eficácia inibitória superior em baixas doses (1x), enquanto o verde e o oolong exigiram concentrações dez vezes maiores (10x) para atingir o mesmo efeito supressor. O bloqueio da patogênese fúngica através desses extratos consolida-se como uma estratégia terapêutica promissora, capaz de desarmar a virulência de forma segura e com menor pressão seletiva para resistência microbiana.
Palavras-chave: Candida albicans. Filamentação. *Camellia sinensis. Malva sylvestris.* Fitoterápicos.

Área do Conhecimento: Ciências da Saúde; Farmacologia.

Introdução

Candida albicans é a espécie fúngica mais isolada de infecções humanas no mundo (Bathol *et al*, 2025). Esta levedura é parte da microbiota normal da pele e das mucosas oral e urogenital, onde não causa doença em indivíduos sadios. Entretanto, em condições que favoreçam sua proliferação exacerbada, como alteração do pH ou inaptidão do sistema imune, ela passa a se comportar como um micro-organismo oportunista. Indivíduos imunocomprometidos, portanto, estão mais suscetíveis a terem infecções causadas por esta espécie, que podem variar de infecções superficiais a sistêmicas, que podem ser potencialmente fatais (Bathol *et al*, 2025; Glazier *et al*, 2023; Kadoshi, 2019). Uma característica importante desta espécie é sua capacidade de transição morfológica. Transitar da forma leveduriforme para hifas e pseudohifas depende de características genéticas de cada cepa, mas também de fatores ambientais, como temperatura (Azadmanesh et al, 2017; Glazier *et al*, 2023; López-Ribot, 2005). Este dimorfismo facilita a formação de biofilmes e a invasão tecidual, cruciais para sua patogênese e um de seus principais fatores de virulência (Bathol *et al*, 2025; Glazier *et al*, 2023; Jacobsen, Hube, 2017). Dentro deste contexto, a cepa SC5314, empregada neste estudo, possui um alelo com ganho de função em seu material genético, o que lhe confere robusta filamentação, tornando-a mais virulenta e com maior capacidade para invasão tecidual (Glazier *et al*, 2023; Lindemann-Perez, Perez, 2024). Até o presente momento, o tratamento para candidíases consiste no uso de drogas antimicrobianas convencionais. Porém, os antifúngicos têm limitações importantes, como os efeitos

colaterais para o paciente, tempo de tratamento extenso e crescente resistência aos antimicrobianos (Bathol *et al*, 2025; Vila *et al,* 2017).

Atualmente, a utilização de compostos fitoterápicos no combate a infecções tem se mostrado uma estratégia fundamental na medicina contemporânea, especialmente diante do crescente desafio global da resistência antimicrobiana. As plantas sintetizam uma gama de metabólitos secundários, como flavonóides, terpenos, fenóis e alcalóides, que atuam como escudos naturais contra patógenos. Na prática clínica, os fitoterápicos antimicrobianos oferecem uma alternativa promissora ou um complemento aos antibióticos sintéticos, pois possuem múltiplos mecanismos de ação simultâneos, como a ruptura da membrana celular bacteriana, a inibição de enzimas vitais dos microrganismos e a inibição de bombas de efluxo. Essa complexidade e diversidade fitoquímica dificultam a adaptação e a criação de resistência por parte de bactérias, fungos e vírus, consolidando o potencial terapêutico dessas plantas (Angelini et al., 2024). Um dos exemplos mais notáveis de plantas com amplo espectro medicinal é a *Camellia sinensis*, cujas folhas são mundialmente reconhecidas por suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, neuroprotetoras e, destacadamente, antimicrobianas. Os principais responsáveis por esses benefícios são os compostos polifenólicos, em especial um grupo de flavonoides chamados catequinas, sendo a epigalocatequina galato (EGCG) a molécula mais abundante e potente (Chaudhary et al., 2023).

Outra planta de relevância no combate a processos infecciosos e inflamatórios é a *Malva sylvestris*, tradicionalmente valorizada na medicina popular por seu alto teor de mucilagens emolientes, mas que também possui uma robusta capacidade antimicrobiana. A sua composição fitoquímica é bastante complexa, englobando não apenas os polissacarídeos formadores da mucilagem, mas também uma rica presença de flavonoides, antocianinas (como a malvina e a malvidina), taninos e ácidos fenólicos (como o ácido clorogênico). São esses compostos os principais mediadores de sua ação direta contra diversas cepas bacterianas (como *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*) e fúngicas, tornando a malva particularmente eficaz no tratamento de infecções do trato respiratório superior e afecções da cavidade orofaríngea. Assim, a sinergia entre a proteção física e calmante das mucosas promovida pelas mucilagens e o ataque bioquímico e antibiofilme liderado por seus metabólitos secundários faz da *M. sylvestris* um fitoterápico de notável eficácia clínica (Fathi et al., 2021).

Diante das limitações dos antifúngicos convencionais, como a toxicidade hepática e renal e o crescente índice de resistência, a busca por novas abordagens terapêuticas torna-se urgente. Como a capacidade de filamentação da *Candida albicans*, sua transição de levedura para hifas, é o seu principal fator de virulência, sendo crucial para a invasão tecidual e formação de biofilmes, a inibição dessa morfologia representa uma estratégia promissora. Nesse contexto, a utilização de *Camellia sinensis* e *Malva sylvestris* em ensaios justifica-se pela rica e complexa composição fitoquímica dessas plantas, que inclui catequinas (como a EGCG), teaflavinas, flavonoides e ácidos fenólicos, compostos com comprovada e robusta atividade antimicrobiana e antibiofilme. Avaliar a eficácia desses fitoterápicos em suprimir a filamentação, especialmente em cepas altamente virulentas como a SC5314, pode beneficiar significativamente os tratamentos clínicos ao oferecer alternativas ou terapias adjuvantes que desarmam os mecanismos de invasão do fungo sem gerar alta pressão seletiva para resistência, resultando em intervenções mais seguras, eficazes e com menos efeitos colaterais para os pacientes.

Metodologia

Para a realização do presente trabalho, foi utilizada *Candida albicans* SC5314. Armazenada em meio BHI (Kasvi, Brasil) e congelada a -20 °C. Para a realização do ensaio de filamentação *in vitro*, foi feito, então, o descongelamento em temperatura ambiente, seguido de ressuspensão celular em meio de cultura BHI novo, e as leveduras foram mantidas a 37 °C em estufa bacteriológica por 48 h. Passado este período, o fungo foi semeado em ágar Sabouraud para crescimento de colônias puras e

isoladas. Transcorrido este tempo, a partir de colônias puras crescidas no ágar, foi preparada uma suspensão em solução fisiológica estéril (NaCl 0,9%). A densidade celular final foi ajustada para 1 × 10^6 células/mL também em solução salina.

Para o estudo foram utilizados diferentes chás a base de *Camellia sinensis*, chá preto, chá verde e chá oolong e folhas seca trituradas de *Malva sylvestris*, para a preparação dos extratos, foi seguido o método descrito na farmacopeia fitoterápica, onde utilizamos 1g do chá para 100ml de água, este é aquecido até 85ºC e deixado em infusão por 10 min (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2016; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2021). Ao final da infusão, os extratos foram decantados e filtrados em filtro microporoso de 0,22 µm para garantir a esterilidade da preparação. Foram testados extratos 1x concentrados e extratos 10x concentrados para fins de comparação de eficácia.

Para o teste de filamentação, a técnica foi adaptada de Barbosa *et al*. (2026). O ensaio transcorreu da seguinte maneira: em uma placa de 24 poços estéril, 900 µLde água destilada estéril foram adicionados a todos os poços. Em seguida, foram adicionados 100 µL de Soro Fetal Bovino (SFB) para uma concentração final de 10%. Por fim, foram adicionados 100 µL da suspensão de *Candida albicans*. E para os grupos teste foram adicionados 50 µL de cada extrato preparado. A placa foi mantida em estufa bacteriológica por 24 h, a 37 °C, em ar atmosférico.

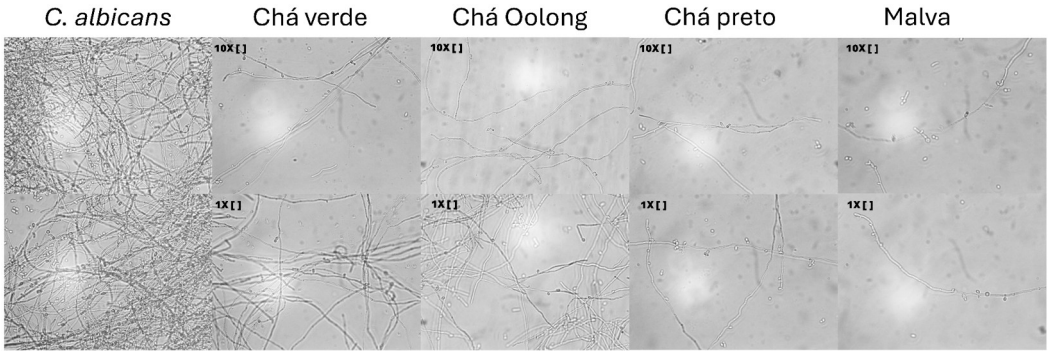
Após 24 h de incubação, 50 µL do inóculo foram transferidos para lâminas de vidro contendo 10 campos previamente demarcados no verso e observados em microscópio óptico com aumento de 400x. As imagens foram analisadas quanto à morfologia de *C. albicans*, e 5 campos microscópicos por lâmina foram selecionados para a quantificação de hifas, e foram atribuídas as seguintes pontuações para o número de hifas presentes em cada campo microscópico: 0 (ausência de hifas), 1 (1–3 hifas), 2 (4–10 hifas), 3 (11–20 hifas) e 4 (mais de 20 hifas).

Resultados

Diante das imagens observadas na Figura 1 e das análises de score feitas do total de todas as amostras apresentadas no gráfico da Figura 2, podemos observar a eficácia dos diferentes extratos vegetais na inibição da filamentação da cepa *Candida albicans* SC5314. O grupo controle, composto apenas pela levedura sem adição de extrato, atingiu a mediana de score 4, o valor máximo da escala, o que valida o modelo experimental ao confirmar a indução robusta da transição morfológica pelo Soro Fetal Bovino a 10%. Ao avaliar os derivados de *Camellia sinensis*, os extratos de chá verde e chá oolong apresentaram um comportamento semelhante de inibição dose-dependente. Nesses grupos, apenas a concentração mais elevada (10x) reduziu significativamente a formação de hifas, alcançando uma mediana de score 2, enquanto a concentração 1x não apresentou efeito inibitório estatisticamente significativo, mantendo a mediana de score 4 (semelhante ao controle).

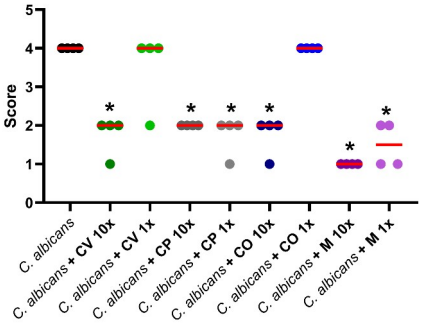
Em contraste, o extrato de chá preto demonstrou eficácia significativa em ambas as concentrações testadas, reduzindo a filamentação para uma mediana de score 2 tanto na diluição 10x quanto na 1x. Isso indica que a oxidação total das folhas, característica do processamento do chá preto, pode preservar ou potencializar a sua atividade supressora mesmo em concentrações menores. Por fim, o extrato de *Malva sylvestris* exibiu o maior potencial inibitório entre todos os fitoterápicos avaliados. A sua concentração 10x inibiu drasticamente a transição morfológica, resultando em uma mediana de score 1 (apenas 1 a 3 hifas por campo), e a diluição 1x também demonstrou supressão significativa, com resultados variando entre os scores 1 e 2. De modo geral, os achados evidenciam que todos os extratos possuem a capacidade de bloquear a transição para hifas e suprimir a virulência do fungo, destacando-se a malva por quase abolir a filamentação celular e o chá preto por manter a eficácia inibitória em concentrações em que o chá verde e o oolong falham.

Figura 1 - Imagens da ação dos extratos nas hifas de *C. albicans* através de microscopia de luz com aumento de 400x, dos grupos controle (C. albicans) e tratados com diferentes extratos (chá) preparados a partir de *Camellia sinensis* (verde, oolong e preto) e *Malva sylvestris*, em diferentes concentrações.



Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Figura 2 - Gráfico dos scores apresentados dos grupos testados, controle (C. albicans) e tratados com diferentes extratos (chá) preparados a partir de *Camellia sinensis* (verde, oolong e preto) e *Malva sylvestris*, em diferentes concentrações.



Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Discussão

A supressão da transição morfológica de *Candida albicans* por meio de extratos de *Malva sylvestris* e espécies de *Camellia sinensis* reflete uma tendência consolidada na literatura científica de focar no desenvolvimento de fitoterápicos com propriedades antivirulência. O efeito inibitório marcante da *M. sylvestris*, capaz de agir em baixas concentrações, alinha-se a estudos que confirmam sua eficácia não apenas na contenção do crescimento biológico, mas no bloqueio direto da formação de biofilmes, um fenômeno estritamente dependente do desenvolvimento de hifas (MALI et al., 2019). No caso da *Camellia sinensis*, a atividade morfogênica relatada possui forte fundamentação mecanística na literatura; evidências apontam que fitoquímicos extraídos da planta, como polifenóis e saponinas específicas — reprimem ativamente vias de sinalização celular (como as vias cAMP-PKA e MAPK), que são cruciais para a adesão e o crescimento hifal do fungo (WANG et al., 2024). Além disso, a superioridade na inibição observada em extratos de folhas totalmente oxidadas (chá preto) sugere que compostos poliméricos complexos, a exemplo das teaflavinas, podem possuir maior afinidade espacial e estabilidade na interação com alvos moleculares da parede celular fúngica do que as catequinas simples.

Em termos comparativos, diversas outras espécies vegetais têm demonstrado atividade semelhante e específica contra o dimorfismo e a virulência de *C. albicans*, reforçando o potencial desta abordagem fitoterápica. Extratos aquosos de *Solidago virgaurea* (vara-de-ouro) inibem fortemente a transição de levedura para hifa e a estruturação de biofilmes, atuando por meio de saponinas que criam um ambiente inóspito à virulência sem necessariamente provocar morte celular generalizada (CHEVALIER et al., 2012). Outro exemplo expressivo é a *Gymnema sylvestre*, cujos ácidos gimnêmicos (triterpenoides) bloqueiam a formação de tubos germinativos e a consequente invasão tecidual por *C. albicans*, preservando totalmente a viabilidade das células na sua forma comensal de levedura (VEDIYAPPAN et al., 2013). Extratos macerados de *Allium sativum* (alho) também são amplamente documentados por sua capacidade de suprimir a filamentação fúngica de maneira dose-dependente (SILVA et al., 2021). Dessa forma, a utilização de extratos vegetais consolida-se como uma estratégia biológica promissora, atuando como agentes que desarmam os mecanismos patogênicos e de invasão de *C. albicans*, o que reduz significativamente a pressão seletiva para o desenvolvimento de resistência quando comparada à ação letal dos antifúngicos tradicionais.

Apesar de se originarem da mesma planta, o chá verde, o preto e o oolong apresentam diferenças marcantes que decorrem exclusivamente dos seus métodos de processamento, o que altera drasticamente a sua composição fitoquímica final. O chá verde não sofre oxidação enzimática; suas folhas são rapidamente expostas ao calor (seja por vaporização ou torrefação) logo após a colheita para inativar enzimas endógenas como a polifenol oxidase, o que preserva quase intactas as altas concentrações de catequinas originais. O chá preto, por outro lado, passa por um processo de oxidação completa (frequentemente chamado de fermentação), em que as folhas são rompidas e expostas ao ar, fazendo com que as enzimas transformem as catequinas simples em compostos poliméricos maiores chamados teaflavinas e tearubiginas, que conferem sua cor escura e perfil terapêutico distinto. Já o chá oolong é parcialmente oxidado, situando-se entre o verde e o preto tanto no método de preparo (onde a oxidação é interrompida na metade do processo) quanto na fitoquímica, oferecendo um equilíbrio único entre catequinas livres e polifenóis complexos (Takemoto & Takemoto, 2018; Abudureheman et al., 2022).

Conclusão

O presente estudo demonstrou que os extratos aquosos de *Camellia sinensis* e *Malva sylvestris* possuem um expressivo potencial antivirulência contra *Candida albicans*, atuando de forma efetiva na supressão da sua transição levedura-hifa, um processo fundamental para a invasão tecidual e a formação de biofilmes. A *Malva sylvestris* destacou-se como o fitoterápico mais potente, sendo capaz de inibir drasticamente a filamentação da cepa mesmo em concentrações mais baixas (1x). Entre os derivados da *Camellia sinensis*, evidenciou-se que o método de processamento das folhas influencia diretamente a atividade biológica contra o fungo: o chá preto, totalmente oxidado, manteve a eficácia supressora em menores concentrações quando comparado aos chás verde e oolong, que exigiram doses dez vezes maiores (10x) para atingir o mesmo nível de inibição. Dessa forma, a utilização desses extratos vegetais consolida-se como uma estratégia terapêutica promissora. Ao invés de focar apenas na letalidade direta, esses compostos atuam desarmando os mecanismos patogênicos do microrganismo, o que pode reduzir significativamente a pressão seletiva para a resistência antimicrobiana e oferecer novas perspectivas para o desenvolvimento de tratamentos alternativos ou adjuvantes mais seguros e eficazes contra as candidíases.

Referências

ABUDUREHEMAN, B. et al. Enzymatic oxidation of tea catechins and its mechanism. **Molecules**, v. 27, n. 3, p. 942, 2022. DOI: 10.3390/molecules27030942.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Formulário de fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira**. 2. ed. rev. e atual. Brasília: Anvisa, 2021.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Memento fitoterápico da Farmacopeia Brasileira**. 1. ed. Brasília: Anvisa, 2016.

ANGELINI, P. et al. Plant-derived antimicrobials and their crucial role in combating antimicrobial resistance. **Antibiotics**, v. 13, n. 8, p. 746, 2024. DOI: 10.3390/antibiotics13080746.

AZADMANESH, J. et al. Filamentation involves two overlapping, but distinct, programs of filamentation in the pathogenic fungus *Candida albicans*. **G3 Genes|Genomes|Genetics**, v. 7, n. 11, p. 3797–3808, 2017.

BHATOL, J. et al. Exploring new antifungal agents for the treatment of *Candida* infections in the era of resistance. **Biotech Res Asia**, v. 22, n. 4, 2025.

CHAUDHARY, P. et al. *Camellia sinensis*: insights on its molecular mechanisms of action towards nutraceutical, anticancer potential and other therapeutic applications. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 16, p. 104680, 2023. DOI: 10.1016/j.arabjc.2023.104680.

CHEVALIER, M. et al. Inhibition of *Candida albicans* yeast-hyphal transition and biofilm formation by *Solidago virgaurea* water extracts. **Journal of Medical Microbiology**, v. 61, n. 7, p. 1016-1022, 2012. DOI: 10.1099/jmm.0.041699-0.

FATHI, M. et al. Phytochemical composition, antibacterial, and antibiofilm activity of *Malva sylvestris* against human pathogenic bacteria. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v. 14, 2021.

GLAZIER, V. E. et al. The *Candida albicans* reference strain SC5314 contains a rare, dominant allele of the transcription factor Rob1 that modulates filamentation, biofilm formation, and oral commensalism. **ASM Journals**, v. 14, n. 5, 2023.

JACOBSEN, I. D.; HUBE, B. *Candida albicans* morphology: still in focus. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, v. 15, n. 4, p. 327–330, 2017. DOI: 10.1080/14787210.2017.1290524.

KADOSH, D. Regulatory mechanisms controlling morphology and pathogenesis in *Candida albicans*. **Current Opinion in Microbiology**, v. 52, p. 27-34, 2019.

LINDEMANN-PEREZ, E.; PEREZ, J. C. *Candida albicans* natural diversity: a resource to dissect fungal commensalism and pathogenesis. **Current Opinion in Microbiology**, v. 80, p. 102493, 2024.

LÓPEZ-RIBOT, J. *Candida albicans* biofilms: more than filamentation. **Current Biology**, v. 15, n. 12, 2005.

MALI, S. et al. *Malva sylvestris* inhibits *Candida albicans* biofilm formation. **Journal of Herbal Medicine**, v. 16, p. 100253, 2019. DOI: 10.1016/j.hermed.2019.100253.

SILVA, A. P. S. et al. Atividade antifúngica do alho (*Allium sativum*) sobre *Candida albicans*. **Revista Científica Multidisciplinar**, 2021.

TAKEMOTO, M.; TAKEMOTO, H. Synthesis of theaflavins and their functions. **Molecules**, v. 23, n. 4, p. 918, 2018. DOI: 10.3390/molecules23040918.

VEDIYAPPAN, G. et al. Gymnemic acids inhibit hyphal growth and virulence in *Candida albicans*. **PLoS One**, v. 8, n. 9, e74189, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0074189.

VILA, T. et al. Targeting *Candida albicans* filamentation for antifungal drug development. **Virulence**, v. 8, n. 2, p. 150–158, 2017.

WANG, Y. et al. Anti-biofilm activity of assamsaponin A, theasaponin E1, and theasaponin E2 from *Camellia sinensis*. **Pathogens**, v. 13, n. 4, 2024. DOI: 10.3390/pathogens13040315.