

ATIVIDADE *in vitro* DE *Olea europaea* FRENTE A FUNGOS DO GÊNERO *Candida*

MÁRCIA KUTSCHER RIPOLL¹; VITTÓRIA BASSI DAS NEVES²; STEFANIE
BRESSAN WALLER³; ANGELITA DOS REIS GOMES⁴; JOÃO ROBERTO
BRAGA DE MELLO⁵; RENATA OSÓRIO DE FARIA⁶

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul – marciaripoll@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – vick.bassi@gmail.com

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

⁴Universidade Federal de Pelotas – angelitagomes@gmail.com

⁵Universidade Federal do Rio Grande do Sul – jmello@gabinete.ufrgs.br

⁶Universidade Federal de Pelotas – renataosoriovet@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A *Olea europaea* é pertencente à família das *Oleaceae*, única dentre a família a produzir fruto comestível, a azeitona, do qual se faz a extração óleo de oliva. Atualmente o plantio das oliveiras é realizado em regiões que possui verão quente e seco, normalmente designado inverno ameno, forte insolação e com presença de precipitações. Porém, podendo ser cultivada em regiões de clima temperado ou subtropical, caracterizados por verões calorosos e secos, e também com baixas temperaturas para sua floração. É considerado um dos cultivos mais antigos, e no Brasil as regiões Sul e Sudeste tem ênfase em sua produção (COUTINHO 2015).

No ano de 1948, a cultura da oliveira foi implementada no Rio Grande do Sul, com suporte do governo e criação de órgãos especializados, estimulando a sua produção e desenvolvimento. A partir disso, surgiu um interesse pelo conhecimento e aplicação da olivicultura no Rio Grande do Sul (COUTINHO 2015).

O fator climático no sul do Brasil agrega positivamente para o cultivo das oliveiras, variando sua temperatura anual média entre 17°C e 24°C, tornando interessante e possível seu plantio, posto que a temperatura ideal para o crescimento e frutificação da oliveira está entre 10°C e 30°C (PILLAR et al., 2009; COUTINHO, 2009).

Os metabólitos secundários das plantas podem ser divididos em três em compostos terpênicos, compostos nitrogenados e compostos fenólicos (TAYZ & ZEIGER, 2004). A composição desses fenóis pode variar entre extratos, oleuropeína e hidroxitirosol são os principais compostos bioativos encontrados em extratos de oliveira (MELLO, 2012).

A candidose é uma doença fúngica causado por fungos do gênero *Candida*, onde o principal causador de doença em cavidade oral é a *Candida albicans*. Essa infecção ocorre a partir da desarmonia na microbiota, resultando em lesões do tipo muco-cutânea, sistêmica, visceral e alérgica (LACAZ et al., 1991; SIDRIM & MOREIRA, 1999). Por razões ainda não esclarecidas, as *Candidas* estão tornando-se resistentes aos antifúngicos dispostos rotineiramente na clínica. A partir dessas informações procuram-se alternativas para auxiliar no tratamento dessas afecções, obtendo-se nas plantas e extratos diversos eficientes fontes no combate a afecções por micro-organismos como observado em estudos realizados com fungos e bactérias (SUDJANA et al., 2009; KORUKLUOGLU, et al., 2006; MOSCA et al., 2005).

No intuito testar e observar atividade do azeite bruto de *Olea europaea*, foram realizados testes *in vitro* frente à *Candida* spp, na intenção de utilizar esses produtos de maneira a inserir no mercado como produto auxiliar a antifúngicos comerciais.

2. METODOLOGIA

Foram testados azeites brutos de cinco variedades distintas (Picual, Frontoio, Koroneiki, Coratina e um blending de Arbosana com Arbequina) cedidas pela Estação Experimental Cascata (EEC – EMBRAPA). Foram utilizados isolados do Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Micologia Veterinária (MicVet – UFPel), cinco isolados de *Candidas*, provenientes de animais que apresentavam lesões e sinais clínicos.

Para o teste de sensibilidade *in vitro*, realizou-se a técnica de microdiluição em caldo, com base no documento M27-A3 para fungos leveduriformes do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), utilizando-se adaptações para produtos químicos (NCCLS, 2002). Para utilização dos azeites brutos, foram testados em diluições de seis vezes, sucessivas, variando a concentração de 250mg/ml a 7,81mg/ml. Essas concentrações foram previamente diluída em meio RPMI-1640, tamponado com glicose a 2% e MOPS. Todos os testes foram realizados em triplicata em microplacas de 96 poços de fundo chato. Na coluna de letra A das microplacas colocou-se o controle negativo, para evidenciar esterilidade do meio e também do produto testado e na coluna de letra H foi disposto o controle positivo, com a finalidade de observar a viabilidade dos isolados testados. Em seguida, colocou-se 100 µl do produto testado no poço de letra B, e realizou-se a diluição sequencial do mesmo ao longo dos poços, posteriormente adicionou-se 100 µl de inóculo diluído em RPMI-1640. As microplacas foram incubadas durante 48h na temperatura de 35°C até a leitura da concentração inibitória mínima (CIM).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os azeites brutos das cinco variedades não obtiveram resultados fungicidas e fungistáticos frente a fungos do gênero *Candida* utilizados no estudo, o que vem de encontro com estudos de Korukluoglu et al. (2006) que a partir de seu estudo observou que o extrato das folhas de *Olea europaea* obtiveram resultado positivo frente a fungos leveduriformes. Devido a grande variação de compostos majoritários em diferentes extratos, se poderia explicar a divergência dos resultados obtidos em outros estudos (MELLO, 2012). Mesmos resultados divergentes são vistos em estudos realizados por Sudjana et al. (2009) e Battinella et al. (2006), que testaram a ação de extratos e aldeídos alifáticos, extraídos da azeitona, respectivamente. Foram testados contra leveduras do gênero *Candida* e bactérias como *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Serratia marcescens*, constatando que o microorganismo mais suscetível dentre os testados foi *Campylobacter jejuni* no primeiro estudo, e sobre isolados de *Candida* spp., *Tricophyton mentagrophytes* e *Microsporium canis* no segundo estudo. Ambos os trabalhos obtiveram resultados positivos frente a inibição de fungos e bactérias.



4. CONCLUSÕES

Considerando que infecções por candida estão cada vez mais corriqueiras na clinica e a observação de resistência a certos antifungicos usados rotineiramente a demanda por novos medicamentos se faz necessária, porem, comprovou-se no presente estudo que azeite bruto extraido não estabelece uma opção possível no combate aos isolados clinicos testados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BATTINELLIA, L.; DANIELEA, C.; CRIASTIANIB, M.; BISIGNANOB, G.; SAIJAB, A.; MAZZANTIA, G. In vitro antifungal and anti-elastase activity of some aliphatic aldehydes from *Olea europaea* L. fruit. **Phytomedicine**, v. 13, p. 558 – 563, 2006.

COUTINHO, E. F., JORGE, R. O., HAERTER, J. A., COSTA, V. B. **Oliveira: Aspectos técnicos e cultivo no Sul do Brasil**. EMBRAPA, Brasília – DF, 2015.

COUTINHO, E. F., RIBEIRO, F. C., CAPPELLARO, T. H. **Cultivo de Oliveira (*Olea europaea* L.)**. Pelotas – RS, 2009.

KORUKLUOGLU, M., SAHAN, Y., YIGIT, A., KARAKAS, R. **Antifungal activity of olive leaf (*Olea Europaea* L.) extracts from the Trilye region of Turkey**. Ann Microbiol 56:359–362, 2006.

LACAZ C.S., PORTO E., MARTINS J.E.C. *Micologia Médica*. São Paulo: Sarvier, 1991.

MELLO, L. D., PINHEIRO, M. F. **Aspectos físico-químicos de azeite de oliva e de folhas de oliveira provenientes de cultivares do RS, Brasil**. v. 23, n 4, p. 537-548, Araraquara, 2012.

MOSCA CO, MORAGUES MD, BRENA S, ROSA AC, POTÓN J. Isolation of *Candida dubliniensis* in a teenager with denture stomatitis. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 25-31, 2005.

NCCLS. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica de Fungos Filamentosos; **Norma Aprovada**. NCCLS document M38-A (ISBN 1-56238-470-8). 2002.

NOBRE, M.O.; NASCENTE, P.S.; MEIRELES, M.C.; FERREIRO, L. **Drogas antifúngicas para pequenos e grandes animais**. Ciência Rural, 32, 175-184, 2002.

PILLAR, V. P., MÜLLER, S. C., CASTILHOS, Z. M. S., JACQUES, A. V. A. **Campos Sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade**. Brasília, MMA. 403 p. 2009.

SIDRIM J.C., MOREIRA J.L.B. *Fundamentos Clínicos e Laboratoriais da Micologia Médica*. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1999.

SUDJANA, A. N., D'ORAZIO, C., RYAN V., RASOOL N. **Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract**. Int. J. Antimicrob. Agents, 33: 461-463, 2009.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, p.449-484, 2004.