

ISOLADOS DE *CANDIDA* FRENTE À INFUSÃO DE EXTRATOS DE *OLEA EUROPAEA*

CARLA BEATRIZ ROCHA DA SILVA¹; MÁRCIA KUTSCHER RIPOLL²;
STEFANIE BRESSAN WALLER³; OTÁVIA DE ALMEIDA MARTINS⁴; RENATA
OSÓRIO DE FARIA⁵; MÁRIO CARLOS ARAÚJO MEIRELES⁶

¹Universidade Federal de Pelotas - carlabrsil@gmail.com

²Universidade Federal do Rio Grande do Sul - marciaripoll@hotmail.com

³Universidade Federal do Rio Grande do Sul - waller.stefanie@yahoo.com.br

⁴Universidade Federal de Pelotas - otavia.martins@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas - renataosoriovet@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas - meireles@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

As espécies de *Candida* são fungos leveduriformes, podendo reproduzir-se por gemulação, mas também podem apresentar-se na forma de pseudo-hifas e hifas formando micélio, através da formação de tubo germinativo, dependendo de fatores ambientais, suporte nutricional, e se está em saprofitismo ou parasitismo. (MIMS et al., 1995; AMNA et al. 2013) Usualmente esta levedura oportunista compõe a microbiota da mucosa íntegra de homens e animais relacionando-se de forma comensal (MORETTI et al., 2004) ou tornando-se patogênica devido a distúrbios na proteção dos hospedeiros, como a nas barreiras físicas, químicas e imunológicas, provocando doença denominada candidose/candidíase (GARCIA et al., 2007; SIDRIM; ROCHA, 2004). RUIZ et al. (2005) relatam que os indivíduos saudáveis desenvolvem defesas imunológicas que inibem a proliferação e a progressão desse tipo de infecção.

Frequentemente, o desequilíbrio entre os micro-organismos nas mucosas causado por antibioticoterapia por longos períodos de tempo, deficiência imunológica do hospedeiro, uso intenso de corticoides ou imunodeficiências decorrentes de doenças crônicas, bem como, a resistência aos antifúngicos, representam um grande desafio para a clínica (CRAWFORD; WILSON, 2015; NOBRE et al., 2002). Para o tratamento de candidose vários fármacos antifúngicos são prescritos, não havendo, no entanto, uma terapêutica padronizada e sim dependendo da resposta do agente infeccioso ao fármaco e da resposta imunológica do hospedeiro. Os compostos triazólicos tem sido os mais receitados, porém, devido a sua frequente utilização tem-se observado maior resistência entre os fungos, sobretudo nas espécies de *Candida* sp. (NOBRE et al., 2002).

Para tentar contornar essa problemática, muitas pesquisas com produtos naturais obtidos de plantas estão sendo realizadas com resultados promissores. No Brasil há muitas plantas que servem como matéria-prima para a produção de medicamentos, sendo chamados fitoterápicos (BRASIL, 2015). Popular por apresentar propriedades medicinais, a *Olea europaea* L. apresenta na sua composição ácidos graxos, vitamina E, compostos fenólicos (entre eles a oleuropeína e o hidroxitirosol) e outras substâncias, que lhe conferem atividade antimicrobiana (GOEL et al., 2016; ZORIC et al., 2013), antiinflamatória, antinociceptiva (EIDI et al., 2012; KIM et al., 2018), anticarcinogênica (IMRAN, 2018), citoprotetora (ALY et al., 2018) e antioxidante (AREE et al., 2018). Seus extratos também são reconhecidos por apresentarem atividade antifúngica frente a agentes patogênicos e por auxiliarem na recuperação de tecidos lesionados

(ZORIC et al., 2013). Desta forma, o objetivo da realização desse trabalho foi estudar a sensibilidade de fungos do gênero *Candida* frente à infusão de folhas de *Olea europaea*.

2. METODOLOGIA

Realizou-se o estudo a partir de dois extratos aquosos derivados da folha de *Olea europaea*, obtidos através da infusão por dez minutos, foram utilizadas as variedades arbequina e koroneiki armazenadas em refrigeração e frasco âmbar.

Para o teste de suscetibilidade *in vitro* utilizou-se o protocolo M27-A3 do CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) adaptado para produtos químicos. Para esses extratos aquosos de *O. europaea* foram testados seis diferentes concentrações de diluição, sendo elas sucessivas, avaliando as de 200 a 6,25 mg/mL⁻¹.

Essas concentrações foram previamente diluídas em ágar Sabouraud dextrose líquido e solução salina, testes em triplicata de poços, em microplaca plástica esterilizada de 96 poços, onde o controle negativo ficou disposto na coluna A e controle positivo representado pela coluna H. Posteriormente foram incubadas por 48 horas em temperatura de 35°C até a realização da leitura da Concentração Inibitória Mínima (CIM), marcado pela menor concentração do crescimento fúngico visualizado a olho nu. Em seguida foi realizada a leitura da Concentração Fungicida Mínima (CFM), através da semeadura em placas de Petri adicionadas de ágar Sabouraud dextrose acrescido de cloranfenicol. Essas placas foram incubadas por dois dias a 35°C, determinando a menor concentração.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato de infusão a dez minutos das variedades arbequina e koroneiki não apresentaram ação fungicida frente aos sete isolados do gênero *Candida*. O extrato de koroneiki na concentração de 100 mg/ml⁻¹ inibiu um total de quatro isolados de *Candida* sp., enquanto, a variedade arbequina inibiu dois isolados em uma concentração maior de 200 mg/ml e um isolado na concentração de 100 mg/ml⁻¹.

Avaliando a eficiência de extratos aquosos de folha de oliveira diante de *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Proteus mirabilis*, SAHIN et al. (2017) observaram atividade antimicrobiana em todos os isolados, de maneira que os extratos evitaram o crescimento na menor concentração utilizada no teste, o que vai de acordo com os resultados obtidos no estudo em questão. KORUKLUOGLU et al. (2006), na região da Turquia verificaram inibição frente a outros fungos, *Candida oleophila*, *Kloeckera apiculata* e *Saccharomyces cerevisiae*. Contudo, NEVES et al. (2017) analisando a atividade antifúngica do azeite de oliva frente a isolados de fungos do gênero *Microsporium* para testar a sensibilidade a duas diferentes marcas de azeite comercial, utilizando a técnica de microdiluição em caldo, seguindo protocolo do mesmo órgão utilizado nesse estudo (CLSI/M38-A2), observaram que o azeite comercial testado não apresentou eficácia para eliminar ou inibir o crescimento fúngico, diferente do encontrado em nosso estudo. Essa diferença nos resultados se deu possivelmente pela diferença celular dos fungos, tendo-se um pluricelular e outro unicelular, sendo importante salientar também que os tipos de extrato e de extração utilizados interferem na constituição e na quantidade de compostos químicos presentes numa mesma espécie vegetal, explicando a razão da

divergência encontrada em resultados de pesquisas quanto à atividade dos extratos testados e quando relacionados aos isolados os resultados também diferenciam-se de acordo com a virulência individual do agente (CUNHA et al., 2006).

4. CONCLUSÕES

Os extratos aquosos das folhas de oliveira das variedades arbequina e koroneiki apresentam ação fungistática frente a isolados do gênero *Candida*, contudo não exibiram ação fungicida para nenhum dos isolados testados, necessitando mais estudos para progressão desses extratos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALY, F.M.; OTHMAN, A.; HARIDY, M.A.M. Protective Effects of Fullerene C60 Nanoparticles and Virgin Olive ilagainst Genotoxicity Induced by Cyclophosphamide in Rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, p. 1-12, 2018.

AMNA, S.; AZIZ, F.; QUDSIA, H.; SHAZIA, T.H., SAYYADA, G.N. Expression of Growth Form Factors during Morphogenesis in *Candida albicans*. **RADS Journal of Biological Research and Applied Science**, v. 4, n. 2, p. 75-79, 2013.

AREE, T.; JONGRUNGRUANGCHOK, S. Structure–antioxidant activity relationship of β -cyclodextrin inclusion complexes with olive tyrosol, hydroxytyrosol and oleuropein: Deep insights from X-ray analysis, DFT calculation and DPPH assay. **Carbohydrate Polymers**, v. 199, p. 661-669, 2018.

Brasil. Ministério da educação. Política nacional de práticas integrativas e complementares no SUS – PNPIC- SUS. Brasília: Ministério da saúde, 2015. 96 p. Disponível em:
http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_praticas_integrativas_complementares_2ed.pdf. Acesso em: 21 set. 2020

CRAWFORD, A.; WILSON, D. Essential metals at the host–pathogen interface: nutritional immunity and micronutrient assimilation by human fungal pathogens. **FEMS yeast research**, v. 15, n. 7, 2015.

CUNHA, S.C.; AMARAL, J.S.; FERNANDES, J.O.; OLIVEIRA, M.B.P.P. Quantification of tocopherols and tocotrienols in Portuguese olive oils using HPLC with three different detection systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 9, p. 3351-3356, 2006.

EIDI, A.; MOGHADAM-KIA, S.; MOGHADAM, J.Z.; EIDI, M.; REZAZADEH, S. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of olive oil (*Oleauropeae*L.) in mice. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 3, p. 332-337, 2012.

GARCIA, M.E. et al. Fungal flora in the trachea of birds from a wildlife rehabilitation centre in Spain. **Veterinarni Medicina**, v. 52, n. 10, p. 464-470, 2007.

GOEL, N.; ROHILLA, H.; SINGH, G.; PUNIA, P. Antifungal Activity of Cinnamon Oil and Olive Oil against *Candida* spp. Isolated from Blood Stream Infections. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 10, n. 8, p. DC09-DC11, 2016.

IMRAN, M.; NADEEM, M.; GILANI, N.S.; KHAN, S.; SAJID, M.W.; AMIR, R.M. Antitumor Perspectives of Oleuropein and Its Metabolite Hydroxytyrosol: Recent Updates. **Journal of Food Science**, v. 0, Iss.0, 2018.

KIM, Y.; CHOI, Y. KANG, M.; LEE, E.; KIM, D. Y.; OH, H.; KANG, Y. Oleuropein curtails pulmonary inflammation and tissue destruction in models of experimental asthma and emphysema. **J. Agric. FoodChem.**, v. 27, 2018.

KORUKLUOGLU, M.; SAHAN, Y.; YIGIT, A.; KARAKAS, R. Antifungal activity of olive leaf (*Olea Europaea* L.) extracts from the Trilye region of Turkey. **Annals of microbiology**, v. 56, n. 4, p. 359, 2006.

MIMS, C. A; PLAYFAIR, J. H.; WAKELIN, D; et. al. **Microbiologia médica**. São Paulo: Manole, 1995. 16p.

MORETTI, A. et al. Diffuse cutaneous candidiasis in a dog. Diagnosis by PCR-REA. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 21, p.139-142, 2004.

NEVES, V.B.; DIAS, T.P.; MELLO, J.R.B.; SILVA, A.L.; FARIA, R.O.; RIPOLL; M.K. Atividade de *Olea europaea* frente a fungos de importância médica e veterinária. In: **SALÃO INTERNACIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – SIEPE**, 9, Santana do Livramento, 2017, **Anais...** Universidade Federal do Pampa, 2017, v. 9, n.2

NOBRE, M.D.O.; NASCENTE, P.D.S.; MEIRELES, M.C.A.; FERREIRO, L. Drogas antifúngicas para pequenos e grandes animais. **Ciência rural**, v. 32, n. 1, p. 175-184, 2002.

RUIZ, L.S.; SUGIZAKI, M.F.; MONTELLI, A.; MATSUMOTO, F.E.; PIRES. M.F.C.; SILVA, B.C.M.; SILVA, E.H.; GANDRA, R.F.; SILVA, E.G.; AULER, M.E.; PAULA, C.R. Fungemia by yeast in Brazil: occurrence and phenotypic study of strains isolated at the Public Hospital, Botucatu, São Paulo. **Journal of Medical Mycology**, v. 40, n. 15, p. 1413-1421, 2005.

SAHIN, S.; SAMLI, R.; TAN, A.S.B.; BARBA, F.J.; CHEMAT, F.; CRAVOTTO, G.; LORENZO, J.M. Solvent-free microwave-assisted extraction of polyphenols from olive tree leaves: Antioxidant and antimicrobial properties. **Molecules**, v. 22, n. 7, p. 1056, 2017.

SIDRIM, J.J.C.; ROCHA, M.F.G. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 338p.

ZORIC, N.; HORVAT, I.; KOPIAR, N.; VUCEMILOVIC, A.; KREMER, D.; TOMIC, S.; KOSALEC, I. Hydroxytyrosol expresses antifungal activity *in vitro*. **Curr Drug Targets**, v. 14, n. 9, p. 992-998, 2013.