

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Origanum vulgare* (ORÉGANO) FRENTE A *Candida albicans*

Maria Jovania Mesquita Lima¹; Andréa Maria Neves²; Alyce Albuquerque Fernandes³; Pedro Henrique Lima Rodrigues⁴; Dr. Profa. Raquel Oliveira dos Santos Fontenelle⁵

1, 3 e 4 Discentes, Ciências biológicas, CCAB, UVA; E-mail: jovanielima31@live.com

2 Doutoranda, CCAB, UVA, 5 Dr. Profa. CCAB, UVA. E-mail: raquelbios@yahoo.com.br

Resumo:

Os mecanismos de resistência às drogas que as espécies de *Candida* spp estão apresentando, têm reunido esforços na tentativa de encontrar, em produtos naturais, alternativas terapêuticas. O óleos essenciais apresentam efeitos sobre cepas fúngicas tornando-os um possível recurso na farmacoterapia. O estudo tem por objetivo verificar a atividade antifúngica do óleo essencial de orégano frente a cepa de *Candida. albicans*. Foram utilizadas cepas clínicas de *Candida albicans* (0102 e 0104). A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) do óleo essencial foi realizada pela técnica de microdiluição em caldo, onde a cepa 0102 conseguiu inibir o CIM com 0,312mg e a cepa 0104 inibiu o CIM com 0,62mg. No CFM observou-se que as cepas tiveram os mesmos valores da concentração de inibição mínima. Diante disso, conclui-se que o óleo essencial de *Origanum vulgare* (orégano) obteve um resultado com efeito antifúngicas sobre a cepa *Candida albicans*.

Palavras-Chave: Inibição fúngica; Micose; Óleo essencial; Oregano.

INTRODUÇÃO

Em diversas espécies de plantas é possível extrair bioativos com atividades antifúngica, antibacteriana e antioxidantes (Ingok et al., 2020, Benoutman et al., 2022). Por isso, estudos de atividade antifúngica com óleos essenciais obtidos de plantas medicinais merecem destaque, em especial com o óleo essencial de *Origanum vulgare*, conhecido mundialmente pelo seu valor medicinal devido às suas variadas propriedades terapêuticas (MORAIS et al., 2009; SOUZA et al., 2010; FENIMAN, 2011).

O orégano (*Origanum vulgare*) é um dos condimentos mais populares do mundo, muito utilizado na culinária, e também uma planta reconhecida pelo seu valor medicinal. Além das folhas empregadas na medicina popular, o orégano vem despertando grande interesse devido ao seu óleo essencial, com experiências positivas em ações terapêuticas e antifúngicas (CLEFF, 2008). Neste contexto, destaca-se a candidíase que é uma micose oportunista causada por espécies do gênero *Candida*. Essas leveduras fazem parte da flora normal da cavidade oral, trato gastrointestinal e urinário de indivíduos saudáveis, não causando prejuízos ao organismo do hospedeiro (GARCIA-CUESTA; SARRION-PEREZ; BAGAN, 2014; HANI et al., 2015; GERMANO et al., 2018).

Os mecanismos de resistência às drogas que as espécies de *Candida* spp estão apresentando, têm reunido esforços na tentativa de encontrar, com base em produtos naturais, alternativas terapêuticas (MENDES, 2017). Diversos estudos são realizados com a finalidade de avaliar a capacidade antifúngica e antibacteriana de vegetais e seus compostos (CAMARGO et al., 2015; KOŁACZKOWSKA et al., 2016).

Por conseguinte, o presente estudo tem por objetivo realizar pesquisa para verificar a atividade antifúngica do óleo essencial de orégano frente a cepa de *candida albicans*, visando contribuir também para o avanço da pesquisa científica.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de pesquisa

O trabalho foi realizado no Laboratório de Microbiologia do Centro de Ciências Agrárias e Biológicas (CCAB), da Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA).

Óleo essencial

O óleo essencial de *O. vulgare* foi adquirido comercialmente na empresa By Samia – Bem estar em gotas. O óleo foi extraído das sumidades floridas pelo o método de destilação a vapor das plantas frescas ou dessecadas, cortadas no momento da floração.

Microrganismo

Para realizar a pesquisa foram utilizadas cepas de isolados clínicos de *Candida albicans* (0102 e 0104) provenientes da Santa Casa de misericórdia de Sobral (Sobral - CE) e da Micoteca da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB).

Inóculo

Para a preparação dos inóculos, as cepas de *C. albicans* foram semeadas em ágar sabouraud dextrose (SDA), e incubadas à 37 °C por 24 horas. As Colônias desta cultura foram suspensas em solução de NaCl 0,85% estéril e ajustadas de acordo com o padrão de 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^6$ UFC/ml para os ensaios de identificação e susceptibilidade antifúngica. As suspensões em salina de *C. albicans* foram diluídas de 1:2000 em RPMI.

Método de microdiluição em caldo

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A determinação da CIM do óleo essencial foi realizada pela técnica de microdiluição em caldo, com base na metodologia de SANTURIO et al. (2007), em microplacas estéreis de 96 poços com fundo em “U”, de acordo com o CLSI norma M27-A3 para *C. albicans*. Em cada poço da placa foi adicionado 100 µL do meio líquido RPMI 1640. Posteriormente, 100 µL do óleo foi adicionado na coluna 1 da letra A ao F. O óleo foi diluído com 945 µL de RPMI (Roswell Park Memorial Institute) 100 µL de DMSO e 5 µL de tween. Por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, foram obtidas concentrações de 2,5 a 0,019 mg/mL, de modo que na primeira coluna da placa se encontrará a maior concentração e na última, a menor concentração. Por fim, foi adicionado 100 µL do inóculo da cepa 0102 nos poços A, B, C e a cepa 0104 nos poços D, E, F. Também foi utilizado como controle o antifúngico anfotericina B para a *C. albicans*. A placa foi incubada a 37 °C por 24 h, posteriormente foi feito a leitura da CIM.

Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM)

A concentração fungicida mínima (CFM) foi determinada com base na metodologia de SANTURIO et al. (2007), e o óleo essencial de *O. vulgare* foi determinada com as cepas testadas. Após a leitura da CIM em 24 horas, alíquotas de 100 µL foram retiradas de cada poço da placa de microdiluição que não apresentou crescimento fúngico, e foram semeadas em placas de Petri em meio de cultura ágar sabouraud dextrose. As placas inoculadas foram assepticamente fechadas e incubadas a 37 °C, e as CFMs será registrada após 48 h. A menos concentração de óleo essencial cujo subcultivo não gerou crescimento no meio de cultura foi considerado como CFM.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse estudo foi utilizado o óleo essencial de orégano comercial frente a cepa da espécie de levedura *Candida albicans* em comparação também a droga controle Anfotericina B para leveduras, no qual foi realizada o teste de microdiluição em caldo obtivendo resultados significativos. Em relação à atividade antifúngica do óleo essencial, a Tabela 1 apresenta os valores de concentração inibitória mínima (CIM), e Concentração Fungicida Mínima (CFM) sobre as cepas de *Candidas albicans*.

Tabela 1

Cepa	Óleo essencial de orégano		Droga ($\mu\text{g/ml}$)	
	CIM (mg/ml)	CFM (mg/ml)	Anfotericina B CIM ($\mu\text{g/ml}$)	CFM ($\mu\text{g/ml}$)
<i>Candida albicans</i> LABMIC 0102	0,312	0,62	1,0	1,6
<i>Candida albicans</i> LABMIC 0104	0,312	0,62	0,25	NI

NI: não inibiu; LABMIC: Laboratório de Microbiologia

Os resultados mostram que o antifúngico padrão utilizado como controle, a anfotericina B inibiu a cepa 0102 com o CIM de 1.0 μg e o CFM de 16 μg . Enquanto a cepa 0104 o CIM deu 0,25 μg e CFM não inibiu o crescimento fungico. Na avaliação do CIM para O.E de orégano, vê-se que o óleo obteve o CIM de 0,312 mg/ml e 0,62 mg/ml para as cepas 0102 e 0104 respectivamente. Já para o CFM objetivou-se para as cepas 0102 e 0104 os mesmos valores da concentração de inibição mínima, ou seja, onde foi a menor concentração do óleo que inibiu as cepas de *candida albicans* na CIM inibiu também nas placas semeadas., mostrando assim um padrão de inibição do óleo essencial de orégano para as cepas proposta nesse projeto.

Em estudo realizado por Pozzatti e colaboradores (2009) sobre a atividade de óleos essenciais, o óleo de orégano demonstrou efeito antifúngico frente a cepas de *C. albicans* e *C. dubliniensis*, para *C. albicans* o CIM foi entre 200–800 ($\mu\text{g/ml}$)¹) e para *C. dubliniensis* o CIM foi 200–400 ($\mu\text{g/ml}$)¹). Em outro estudo, os autores mostraram capacidade do óleo essencial de orégano em inibir a formação de tubo germinativo em isolados de *C. albicans* e *C. dubliniensis*. Destaca-se a importância desse resultado, pois a produção de tubo germinativo é um mecanismo importante na patogenicidade destas espécies (POZZATTI et al., 2010).

CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos do presente estudo, conclui-se que o óleo essencial de *Origanum vulgare* (orégano) obteve um resultado com efeito antifúngicas sobre a cepa *Candida albicans*. O parâmetro de suscetibilidade da CIM e CFM pode indicar que o O.E de orégano é um componente fungicida, mesma em baixa concentração comparada a outros teste encontrados na literatura. No entanto, ressalta-se a importância de futuras pesquisas que poderão dar maior embasamento científico a antifúngicos com base em óleos essenciais.

AGRADECIMENTOS

A iniciação científica BPI, FUNCAP, a Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA), por meio da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós- Graduação (PRPPG), da Pró-reitoria de Educação Continuada (PROED)

REFERÊNCIAS

BENOUTMAN, A., Erbiai, E. H., Edderdaki, F. Z., Cherif, E. K., Saidi, R., Lamrani, Z., Pintado, M., Pinto, E., Da Silva, J. C. G. E., & Maouni, A. (2022). Phytochemical Composition, Antioxidant and Antifungal Activity of *Thymus capitatus*, a Medicinal Plant Collected from Northern Morocco. *Antibiotics*, 11, 1- 18. DOI:10.3390/antibiotics11050681.

CLEFF, M.B. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *ORIGANUM VULGARE* L. FRENTE A FUNGOS DE IMPORTÂNCIA VETERINÁRIA COM ÊNFASE EM *CÂNDIDA* SPP. 2008. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T.; CAMARGO, L. F.; RICHTMANN, R.; QUEIROZTELLES, F. D.; SALLES, M. J.; CUNHA, C. A.; YASUDA, M. A.; MORETTI, M. L.; NUCCI, M. Brazilian guidelines for the management of candidiasis - a joint meeting report of three medical societies: *Medicina Tropical. Braz J Infect Dis.*, v. 17, n. 3, p. 283-312. 2013.

FENIMAN, C.M. POTENCIALIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS COMO ANTIMICROBIANOS APLICADOS EM PRODUTOS LÁCTEOS FERMENTADOS. 98 p. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista, Botucatu – SP, 2011.

GARCIA-CUESTA, C., SARRION-PÉREZ, M. G., BAGÁN, J. V. Current treatment of oral candidiasis: A literature review. *J Clin Exp Dent.*, v.6, n.5, p. e576-82, 2014.

GERMANO, V. E. et al. MICRORGANISMOS HABITANTES DA CAVIDADE ORAL E SUA RELAÇÃO COM PATOLOGIAS ORAIS E SISTÊMICAS: REVISÃO DE LITERATURA. *Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança*, v. 16, n. 2, p. 91–99, 2018.

HANI, U. et al. CANDIDIASIS: A FUNGAL INFECTION--CURRENT CHALLENGES AND PROGRESS IN PREVENTION AND TREATMENT. *Infect Disord Drug Targets.*, v.15, n.1, p. 42-52, 2015.

INGOK, A. M., Devecioglu, D., Dikmetas, D. N., Guler, F. K., & Capanoglu, E. (2020). Antibacterial, Antifungal, Antimycotoxigenic, and Antioxidant Activities of Essential Oils: An Updated Review. *Molecules*, 25, 1-49. DOI: 10.3390/molecules25204711.

KOŁACZKOWSKA, A.; KOŁACZKOWSKI, M. Drug resistance mechanisms and their regulation in non-*albicans Candida* species. *J Antimicrob Chemother*, v. 71, n. 6, p. 1438- 50, 2016.

MENDES, MÁRIO LUÍS TAVARES, AVALIAÇÃO IN VITRO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO DE COCO OZONIZADO CONTRA ESPÉCIE DE *CANDIDA* SPP / Mário Luís Tavares Mendes; orientador Paulo Ricardo Saquete Martins Filho. – Aracaju, 2017. 61 f. : il.

MORAIS, S.M.; CAVALCANTI, E.S.B.; COSTA, S.M. O.; AGUIAR, L.A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.19, n.1B, p. 315-320, 2009.

POZZATTI, P. et al. INHIBITION DE LA FORMATION DE TUBE GERMINATIF DE *CANDIDA ALBICANS* ET DE *CANDIDA DUBLINIENSIS* PAR DIVERSES HUILES ESSENTIELLES. *Journal de Mycologie Medicale*, v. 20, n. 3, p. 185–189, 2010.

POZZATTI, PATRÍCIA et al. COMPARISON OF THE SUSCEPTIBILITIES OF CLINICAL ISOLATES OF *CANDIDA ALBICANS* AND *CANDIDA DUBLINIENSIS* TO ESSENTIAL OILS. *Mycoses*, v. 53, n. 1, p. 12–5, jan. 2009.

SANTURIO, M.J.; SANTURIO, D.F.; POZZATI, P.; MORAES, C.; FRANCHIN, P.R.; ALVES, S.H. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella* de origem avícola. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.37, n.3, p.803-808, 2007.

SOUZA, N.A.B.; LIMA, E.O.; GUEDES, D.N.; PEREIRA, F.O.; SOUZA, E.L.; SOUSA, F.B. Efficacy of *Origanum* essential oils for inhibition of potentially pathogenic fungi. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.46, n.3, p. 499-508, 2010.