



ISSN: 1984-7688

# ANÁLISE DA ATIVIDADE INIBITÓRIA DE ÓLEO ESSENCIAL DE *CITRUS AURANTIFOLIA* SOBRE *CANDIDA ALBICANS* ANALYSIS OF INHIBITORY ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL CITRUS AURANTIFOLIA ON *CANDIDA ALBICANS*

Karen Cristine Santos Galvão<sup>\*1</sup>; Silvana Soléo Ferreira dos Santos<sup>2</sup>; Mariella Vieira Pereira Leão<sup>2</sup>; Célia Regina Gonçalves e Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

<sup>2</sup>Universidade de Taubaté, Taubaté, SP, Brasil

\* karen cristine13@gmail.com

Recebido em: 23/02/2011 - Aprovado em: 16/04/2011 - Disponibilizado em: 13/07/2011

**RESUMO:** *Citrus Aurantifolia* (*C. aurantifolia*), conhecida popularmente por Lima da Pérsia, vem sendo usada na medicina popular como antimicrobiano, entre outros. O objetivo deste trabalho foi analisar a atividade inibitória do óleo essencial de *C. aurantifolia* sobre *C. albicans*. Discos de papel foram embebidos com 0,05 mL de óleo essencial de *C. aurantifolia* e colocados para secar em estufa 50 °C por 24 h. Após reativação, cada cepa de *C. albicans* (n=25) foi suspensa em solução salina esterilizada (10<sup>6</sup> céls/mL) e, com auxílio de pipeta esterilizada, 0,1 mL das suspensões foram transferidas para placas de agar Müller-Hinton. Com uma pinça cada disco foi colocado no centro da placa. Depois de incubadas a 37 °C por 24h, a leitura foi realizada observando-se a presença ou ausência de halo de inibição. Não houve halo de inibição para nenhuma das cepas testadas. O óleo essencial de *C. aurantifolia* não demonstrou potencial inibitório sobre *C. albicans*.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Citrus aurantifolia*; Lima da Pérsia; Antimicrobiano.

**ABSTRACT:** *Citrus Aurantifolia* (*C. aurantifolia*), popularly known as Persia Lima, has been used in folk medicine as antimicrobial, among others. The aim of this study was to analyze the inhibitory activity of essential oil of *C. aurantifolia* on *C. albicans*. Paper discs were soaked with 0.05 mL of essential oil of *C. aurantifolia*, and dried in an oven 50 °C for 24 h. After reactivation, each strain of *C. albicans* (n = 25) was suspended in sterile saline (10<sup>6</sup> cells / mL) and with the aid of sterile pipette, 0.1 mL of the suspensions were transferred to agar Mueller-Hinton. With a pinch each disc was placed in the center of the plate. After incubated at 37 °C for 24 hours, the reading was done by observing the presence or absence of inhibition zone. There was no inhibition zone for any isolate. The essential oil of *C. aurantifolia* showed no inhibitory potential on *C. albicans*.

**KEYWORDS:** *Citrus aurantifolia*; Persia Lime; Antimicrobial.

## INTRODUÇÃO

As plantas do gênero *Citrus* são nativas do Iran e sua história de cultivo data de 4000 anos atrás, quando eram usadas de forma medicinal. O extrato concentrado de suco de *Citrus aurantifolia* demonstrou inibição da proliferação espontânea de células tumorais, sugerindo a presença de proteínas de atividade anti-proliferativa e efeitos imunomodulatórios em linfócitos humanos (Gharagozloo et al., 2002).

O gênero *C. albicans* está presente na microbiota humana. *C. albicans*, podem ser isoladas das

superfícies mucosas sadias da cavidade bucal, vagina, trato gastrintestinal e região retal, cerca de 80% dos indivíduos podem exibir colonização desses locais na ausência de doença. Quando se tornam patogênicos são usualmente denominados fungos oportunistas (Bassetti et al., 2006; Capoor et al, 2005; Laupland et al., 2005). *C. albicans* é considerada a espécie do gênero *Candida* mais frequentemente isolada e que apresenta mais fatores de virulência (Grimoud et al., 2003; Zöllner & Jorge, 2003; Figueiredo et al. 2001; Jorge et al., 1997).

O objetivo do presente trabalho foi analisar a atividade inibitória do óleo essencial de *Citrus aurantifolia* sobre *Candida albicans*.

## MÉTODOS

Frutos de *Citrus aurantifolia* (lima da Pérsia – figura 1) foram colhidos em uma fazenda de Natividade da Serra – SP e levados ao laboratório de Plantas Mediciniais da Universidade de Taubaté para serem processados.

Retiraram-se fatias do solo com 20 cm de profundidade, em cinco pontos diferentes próximos às árvores, com aproximadamente 300g cada. Misturou-se todo o solo, retirando-se uma alíquota de 300g e levou-se ao laboratório de solos para análise da composição de micronutriente e macronutrientes.



Figura 1 – *Citrus aurantifolia* (Lima da Pérsia)

Cascas de cinco quilos de *Citrus aurantifolia* foram utilizadas para obtenção do óleo essencial, por hidrodestilação, no laboratório de plantas medicinais da Universidade de Taubaté.

Discos de papel (Whatman nº 1) com 0,5 cm de diâmetro foram embebidos com 0,05ml de óleo

essencial de *C. aurantifolia* e colocados para secar em estufa a 50° C por 24 h.

Com 24 h de antecedência, 25 cepas de *Staphylococcus aureus* e 25 cepas de *Candida albicans*, oriundas da coleção de culturas da Universidade de Taubaté (CCUT) e American Type Culture Collection (ATCC), foram reativadas em agar infusão de cérebro e coração (BHI, Difco) e agar Sabouraud (Difco), respectivamente.

Após incubação por 24 h a 37 °C, para cada cepa foi preparada uma suspensão em 10 ml de solução salina (NaCl a 0,9%) esterilizada, compatível ao padrão 0,5 da escala de McFarland (aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  cels/ml) para *S. aureus* e  $10^6$  células de *C. albicans* (contagem em câmara de Neubauer).

Com auxílio de pipeta esterilizada, 0,1ml das suspensões foram transferidas para placas de agar Müller-Hinton (Difco) previamente preparadas, e semeadas com auxílio de alça drigalski. Utilizando pinça esterilizada, cada disco foi colocado no centro da placa.

Depois de incubadas a 37 °C por 24h, a leitura foi realizada observando-se a presença ou ausência de halo de inibição.

## RESULTADOS

O solo foi considerado rico em nutrientes e próprio para a produção de citros - (Tabela 1).

Não foi observado halo de inibição para nenhuma das cepas de *C. albicans* testadas (Figura 2).

Tabela 1- Composição do solo de onde foram colhidos os frutos de *Citrus aurantifolia*.

pH	Mo	P	K	Ca	Mg	H+Al	SB
	g.dm <sup>-3</sup>	mg.dm <sup>-3</sup>	mmol.dm <sup>-3</sup>	mmol.dm <sup>-3</sup>	mmol/dm <sup>3</sup>	mmol.dm <sup>-3</sup>	mmol.dm <sup>-3</sup>
4,4	21	5	1,7	17	7	40	25,7

Tabela 1- Composição do solo de onde foram colhidos os frutos de *Citrus aurantifolia* (continuação).

CTC	V	B	Cu	Fe	Mn	Zn
mmol. dm-3	%	mmol. dm-3	mg.dm-3	mg.dm-3	mg.dm-3	mg.dm-3
65,7	39	0,22	3,9	60	7,0	1,8

Onde, Mo = matéria orgânica, P = fósforo K = potássio Ca = cálcio Mg = magnésio H + Al = Hidrogênio + alumínio SB = soma de bases CTC= capacidade de troca de cátions V= saturação por bases B= boro Cu= cobre Fe = ferro Mn= manganês Zn= zinco

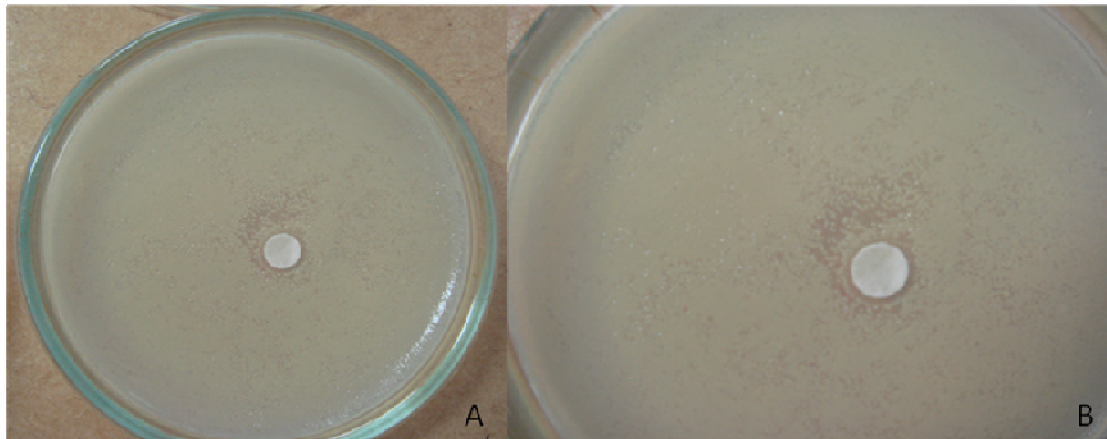


Figura 2- Ausência de halo de inibição para *C. Albicans* ao redor do disco contendo óleo essencial de *C. aurantifolia*, em menor (A) e maior (B) aumentos

## DISCUSSÃO

Ao contrário do relatado por Aibinu et al. (2007) que demonstraram inibição do óleo essencial de *Citrus aurantifolia* (85,5% limoneno) sobre *C. albicans* e Razzaghi-Abyneh et al. (2009) que, além da inibição de 47,8% das cepas de *Aspergillus parasiticus*, obteve inibição de aflatoxinas AFB1 e AFG1 com 1000µg/mL, com a metodologia utilizada no presente trabalho, nenhuma das cepas de *C. albicans* foi inibida.

A diferença entre o resultado do presente trabalho e dos autores citados pode estar no processo de extração do óleo essencial, visto que no estudo dos demais autores o processo se deu por hidrodestilação em hidrodestilador semi-automático e no presente estudo a hidrodestilação se deu em equipamentos rústicos utilizados para extração de óleos de plantas medicinais, onde a extração não é completa.

A diferença metodológica também pode ter sido um diferencial, pois estudos anteriores utilizam o óleo

mais puro, já no presente a metodologia foi adaptada, pois não havia relatos de estudos de óleo com pouco grau de pureza.

A concentração de princípios ativos, no caso deste estudo, não pôde ser determinada, e esta poderia ser diferente em cada disco. Observando que o processo utilizado para obtenção do óleo não possibilitou boa separação da água, esse continha fase aquosa acima do esperado, o que também não pôde ter sua concentração determinada pelos métodos empregados, dificultando obter maior clareza nos resultados.

Além disso, as condições ambientais, de clima e solo, também podem ter interferido nos resultados do presente estudo, porém não foram encontrados relatos na literatura de características específicas do fruto associado às diferentes condições ambientais.

## CONCLUSÕES

Óleo essencial de *Citrus aurantifolia*, extraídos através de hidrodestilação, não demonstrou potencial inibitório sobre *Candida albicans*. Contudo, é sugerido que seja

testado o potencial inibitório da *Citrus aurantifolia* em diferentes concentrações, sobre *Candida albicans*.

## AGRADECIMENTOS

Programa de Iniciação Científica UNITAU, funcionários do laboratório de microbiologia.

## REFERÊNCIAS

- BASSETTI, M.; RIGHI, E.; COSTA, A.; FASCE, R.; MOLINARI, M.P.; ROSSO, R.; PALLAVICINI, F.B.; VISCOLI, C. Epidemiological trends in nosocomial candidemia in intensive care. *BMC Infectious Diseases*, v.10, n.6, p.6-21, 2006.
- CAPOOR, M.R.; NAIR, D.; DEB, M.; VERMA, P.K.; SRIVASTAVA, L.; AGGARWAL, P. Emergence of non-albicans *Candida* species and antifungal resistance in tertiary care hospital. *Japanese Journal Of Infectious Diseases*, v.58, n.6, p.8-344, 2005.
- FIGUEIRÊDO, R.L.Q.; BATISTA, O.M.; RAMALHO, R.M.; LIMA, E.O. Estudo microbiológico da prevalência de enterobactérias na cavidade bucal de pacientes HIV positivos e sua relação com o gênero *Candida*. *Jornal Brasileiro de Clínica & Estética em Odontologia*, v.5, n.26., 2001.
- GHARAGOZLOO, M.; DOROUDCHI, M.; GHADERI, A. Effects of *Citrus aurantifolia* concentrated extract on the spontaneous proliferation of MDA-MB-453 and RPMI-8866 tumor cell lines. *Phytomedicine*. V9. p. 475-477. 2002.
- GRIMOUD, A.M.; MARTY, N.; BOCQUET, H.; ANDRIEU, S.; LODTER, J.P.; CHABANON, G. Colonization of the oral cavity by *Candida* species: risk factors in long-term geriatric care. *Journal of oral science*, v.45, n.1, 2003.
- JORGE, A.O.C.; KOGA-ITO, C.Y.; GONÇALVES, C.R.; FANTINATO, V.; UNTERKIRCHER, C.S. Presença de leveduras do gênero *Candida* na saliva de pacientes com diferentes fatores predisponentes e de indivíduos controle. *Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo*, São Paulo, v.11, n.4, p.85-279, 1997.
- LAUPLAND, K.B.; GREGSON, D.B.; CHURCH, D.L.; ROSS, T.; ELSAYED, S. Invasive *Candida* species infections: a 5 year population-based assessment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v.56, n.3, 2005.
- RAZZAGHI-ABYANEHA, M.; SHAMS-GHAHFAROKHIB, M.; REZAEEC, M.B.; JAIMANDC, K.; ALINEZHADD, S.; SABERID, R.; YOSHINARIE, T. Chemical composition and antiaflatoxigenic activity of *Carum carvi* L, *Thymus vulgaris* and *Citrus aurantifolia* essential oils. *Food Control*. v. 20, p. 1018-1024. 2009.
- ZÖLLNER, M.S.C, JORGE, A.O.C. *Candida* spp. occurrence in oral cavities of breastfeeding infants and their mother's mouths and breasts. *Brazilian Oral Research*, v.17, n.2, 2003.