



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 Medicinais 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 n° 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

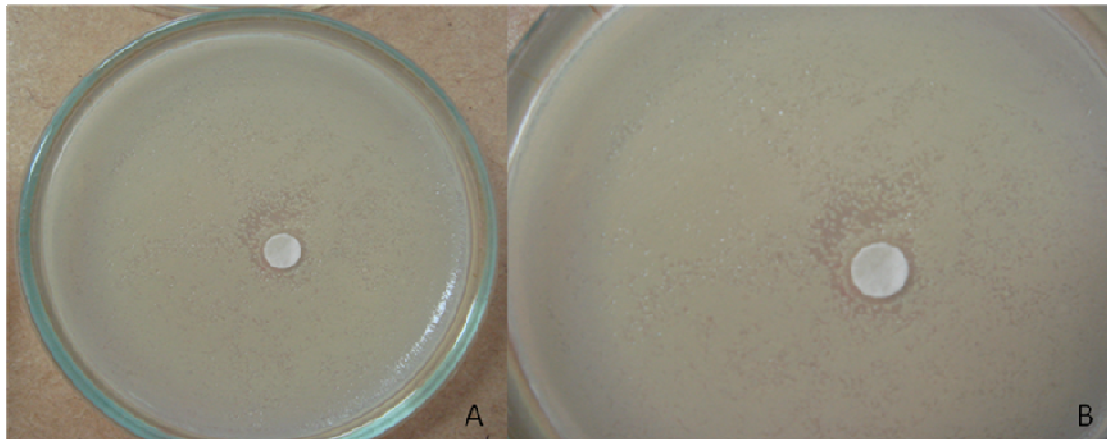


Figura 2- Ausência de halo de inibição para *C. Albicans* ao redor do disco contendo óleo essencial de *C. aurantifolia*, em menor (A) e maior (B) aumentos

## 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.