



## ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS CONTRA LEVEDURAS DOS COMPLEXOS DE ESPÉCIES *CRYPTOCOCCUS*

Guilherme Pinto Vargas<sup>1</sup>, Lucélia Santi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Aluno voluntário de Iniciação Científica, Uniritter; <sup>2</sup>Faculdade de Farmácia, UFRGS.

[guilherme31.vargas@gmail.com](mailto:guilherme31.vargas@gmail.com)

### Introdução

Os óleos essenciais são misturas complexas líquidas e hidrofóbicas, contendo diversos compostos voláteis de baixo peso molecular, produzidos pelos tricomas glandulares das plantas. Apresentam forte fragrância e podem ser extraídos de diversas partes das plantas, como flores, frutos, sementes, caules, brotos e raízes. Os óleos essenciais representam uma parte importante da farmacopeia tradicional e são conhecidos por apresentarem diversas atividades biológicas, como antimicrobiana, antiviral, imunomodulatória, anticancerígena, anti-inflamatória, entre outras. Os complexos de espécies de *Cryptococcus* incluem leveduras basidiomicéticas que infectam o sistema nervoso central, causando meningite criptocócica, além de afetar pulmões e pele. O surgimento de isolados resistentes às terapias convencionais é comum, uma vez que o tratamento para a criptococose é muito prolongado, além de apresentar toxicidade. Portanto a busca por novas moléculas com atividade antifúngica são imprescindíveis. Frente a isso, o objetivo deste projeto foi avaliar a atividade antifúngica de 13 óleos essenciais contra leveduras do gênero *Cryptococcus* spp.

### Materiais e métodos

#### Manutenção dos microrganismos:

Foram utilizados os seguintes isolados: *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* (H99) e *C. gattii* (R265). Todos os microrganismos foram mantidos e cultivados em meio Sabouraud, por 48 horas a 37°C.

#### Avaliação da atividade antimicrobiana:

Foram testados 13 óleos essenciais produzidos localmente (Via Aroma, RS).

#### Ensaio de disco-difusão:

Para o *screening* inicial da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais foi feito o teste de disco-difusão, seguindo as normas e recomendadas pelo Subcomitê para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2003). As placas foram mantidas em estufa por 48 horas a 37°C. Após, as medidas dos halos de inibição foram feitas. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

#### Concentração inibitória mínima (CIM):

A CIM dos óleos essenciais foi determinada pelo método de microdiluição, conforme determinado pelo CLSI, norma M27-A3 (CLSI, 2002), sendo definida como a menor concentração onde não há crescimento visual do microrganismo. Os experimentos foram realizados em 8 replicatas, com as concentrações variando de 25 µL/mL a 0,09 µL/mL.

#### Determinação da atividade fungicida/fungistática:

A atividade fungicida ou fungistática foi avaliada através do teste de gota: 10µL da CIM, 1/2CIM e 2xCIM foram inoculadas em placas de meio Sabouraud, por até 48h em estufa com a temperatura de 37°C. Após este período, foi observado a presença ou ausência do crescimento microbiano.

### Resultados

De 13 óleos essenciais testados para os isolados *C. neoformans* var. *grubii* (H99) e *C. gattii* (R265), 6 apresentaram valores acima de 1,0 no ensaio de disco-difusão para ambos os isolados, e 2 não apresentaram inibição (Tabela 1). Ainda, para 3 óleos (citronela, menta e capim limão) não foi possível determinar o halo, uma vez que os mesmos parecem inibir completamente o crescimento fúngico.

**Tabela 1** - Atividade antifúngica de óleos essenciais através do ensaio de disco difusão contra leveduras do gênero *Cryptococcus* spp.

Óleo essencial	Halo de inibição (cm)	
	<i>C. neoformans</i> (H99)	<i>C. gattii</i> (R265)
Lavandin	1,2	1,7
Alecrim	0,9	0,9
Bergamota	1	1,0
Eucalipto	0,9	0,8
Lavanda	1,3	0,8
Limão siciliano	1,3	1,3
Grapefruit	2,3	1,9
Citronela	ND	ND
Petitgrain	1,3	1,2
Cedro da Virginia	0	0
Menta	ND	ND
Patchoulli	0	1,3
Capim limão	ND	ND

(ND) – não determinado

Dos 12 óleos que apresentaram inibição no ensaio de disco-difusão, 10 apresentaram atividade antifúngica para, pelo menos, uma das espécies avaliadas (Tabela 2).

**Tabela 2**- Concentração inibitória mínima (CIM) de óleos essenciais contra leveduras do complexo *Cryptococcus*.

Óleo essencial	CIM (µL/mL)	
	<i>C. neoformans</i> (H99)	<i>C. gattii</i> (R265)
Lavandin	6,25*	6,25*
Alecrim	3,15*	12,5*
Bergamota	12,5*	6,25*
Eucalipto	3,15*	12,5*
Lavanda	6,25*	-
Limão siciliano	12,5*	6,25**
Grapefruit	-	-
Petitgrain	12,5*	3,15*
Cedro da Virginia	0	0
Menta	6,25**	6,25*
Patchoulli	0	12,5*
Capim limão	-	-

(-) não determinado (\*) atividade fungicida (\*\*) atividade fungistática

### Conclusão

Pode-se concluir até o momento que os óleos essenciais apresentam, em sua maioria, alto potencial de atividade antifúngica contra leveduras do complexo de espécies *Cryptococcus*. Como perspectivas pretendemos finalizar os testes com outros isolados de *Cryptococcus* spp., caracterizar a atividade antifúngica através de análise do mecanismo de ação, avaliar a atividade anti-biofilme dos óleos e isolar a molécula com atividade antifúngica e anti-biofilme.