

AValiação DA ATIVIDADE DE ÓLEOS COMERCIAIS DE GERGELIM (*SESAMUM INDICUM*) SOBRE LEVEDURAS DO GÊNERO *CANDIDA*

Thainara do Nascimento Brito¹, Aline Oliveira da Conceição², João Luciano Andrioli³

1. Estudante de IC da Universidade Estadual de Santa Cruz

2. Pesquisadora e Professora da Universidade Estadual de Santa Cruz/ Orientadora

3. Pesquisador e Professor da Universidade Estadual de Santa Cruz/ Co-Orientador

Resumo:

O óleo de gergelim tem como um dos principais usos medicinais o tratamento de dermatomicoses e onicomicoses. O objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antifúngica de óleos comerciais de gergelim sobre leveduras do gênero *Candida*.

Os óleos de gergelim torrado e natural obtidos comercialmente foram diluídos em DMSO, utilizados puros e nas proporções de 90%, 80%, 50%, 20% e 10% e aplicados nas metodologias de teste de difusão em Agar variante poços e microdiluição. Os resultados obtidos demonstraram ação antifúngica do óleo de gergelim torrado para *C. parapsilosis*, *C. albicans* e *C. krusey* e do óleo de gergelim natural para *C. glabrata*, *C. albicans* e *C. krusey*. A concentração inibitória mínima foi definida em 80%, demonstrando uma possível ação fungicida.

Estes estudos validam a indicação popular do óleo de gergelim, porém, outros estudos devem ser realizados para compreender o mecanismo de ação das substâncias presentes nos óleos e sua ação sobre leveduras do gênero *Candida*.

Palavras-chave: gergelim; antifúngico; candida.

Apoio financeiro: ICB/UESC

Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição: UESC.

Introdução:

Plantas e óleos naturais são comumente usados na área farmacêutica, culinária e cosmética. Além disso, por serem de baixo custo e fácil acesso, se configuram como uma interessante opção terapêutica. Vários autores têm demonstrado a ação antibacteriana, antifúngica e antiviral de óleos naturais (TANGWATCHARIN et al, 2012; SALEM et al, 2000; LI et al, 2016.). O óleo de gergelim, por exemplo, possui benefícios conhecidos popularmente há muitos anos. Atualmente vários autores têm corroborado cientificamente esse conhecimento, como visto nos trabalhos de Narasimhulu et al. (2015), sobre ação antiaterosclerótica e anti-inflamatória e de Wan et al., (2015) sobre a ação antioxidante. Acredita-se que o gergelim seja uma das culturas mais antigas do mundo, cultivada na Babilônia e Assíria há 4 000 anos (HWANG, 2005).

A semente de gergelim é composta por cerca de 55% de óleo e 20% de proteína, sendo a parte oleaginosa rica em ácido linoleico e oleico, mais especificamente oleico (28,6%), linoleico (28,4%) e láurico (14,6%), e alto teor de lignanas lipossolúveis (sesamina e sesamolina) (MARTINCHIK, 2011; GUIMARÃES et al., 2013). Os óleos são compostos hidrofóbicos, o que dificulta sua solubilização em compostos aquosos. O dimetilsulfóxido – DMSO -, (CH₃)₂SO é um solvente comercial que pode ser caracterizado como um líquido incolor, polar, miscível em água e capaz de dissolver uma grande quantidade de moléculas polares e não polares pequenas (CAPRIOTTI et al., 2012). Tem diversos usos farmacêuticos, incluindo a conservação de órgãos, alívio da dor em pacientes com artrite e ação anti-inflamatória (SWANSON, 1985).

O principal uso popular medicinal do óleo de gergelim é para tratar dermatomicoses e onicomicoses. Os principais causadores de dermatomicoses, além dos dermatófitos, são as leveduras do gênero *Candida* (NARDIN et al., 2016), podendo representar entre 18% a 40% do total de enfermidades nas unhas e 30% das dermatomicoses (CALADO, 2005). *C.*

albicans chega a ser a espécie predominante dentre todos os fungos em algumas localidades (MARAHI, 2016). Existem diversos estudos a respeito dos efeitos do óleo essencial de gergelim em amostras de espécies de *Candida*, porém os que utilizam o óleo extraído das sementes, que é mais acessível, são escassos.

O presente estudo pretendeu avaliar e comparar o efeito de dois tipos de óleo de gergelim comercial, torrado e natural, sobre espécies de *Candida*.

Metodologia:

Óleos de gergelim torrado e natural foram obtidos em estabelecimento comercial de produtos naturais do município de Ilhéus. Os óleos de gergelim foram abertos e diluídos utilizando DMSO (50:50) como solvente. Os óleos foram utilizados puros e nas proporções de 90%, 80%, 50%, 20% e 10%. Utilizou-se cepas de leveduras do gênero *Candida* sendo: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. parapsilosis* gentilmente cedidas pelo Dr. Sydney Hartz Alves do Laboratório de pesquisa em Micologia (LAPEME) da Universidade Federal de Santa Maria.

A determinação da atividade antifúngica foi realizada usando o teste de difusão em Agar variante poços. As leveduras foram suspensas em solução salina (0,85% NaCl) a 0,5 da escala de McFarland. Um swab estéril foi imerso na suspensão do inóculo e semeado em placas de Petri contendo 20 mL de Agar Sabouraud Dextrose e ceftriaxona (1:1000). Para distribuição dos tratamentos, foram feitos poços de 6 mm de diâmetro e o ágar foi removido com o auxílio de uma bomba de sucção à vácuo. Dispensou-se em cada orifício 50 µL dos controles positivo e negativo, assim como as diferentes diluições dos óleos. Os testes foram repetidos três vezes. O controle negativo foi representado pela mesma proporção do solvente (DMSO) utilizado para diluição dos extratos. Como controle positivo empregou-se Clorexidina a 1%. Após 24-48 h de incubação a $36 \pm 1^\circ\text{C}$, a avaliação foi feita com base na zona de inibição de crescimento do micro-organismo em relação ao controle positivo ou padrão de referência (antifúngico). Para determinação da concentração inibitória mínima (MIC) $2,5 \times 10^3$ células/mL de leveduras. Como controles, utilizou-se diluições de DMSO a 50% com água destilada estéril e RPMI 1640 seguindo as mesmas concentrações dos óleos utilizadas na técnica de agar difusão; além de tratamentos contendo RPMI puro, RPMI e solução de turvação com levedura, RPMI e clorexidina 1%, clorexidina 1% e solução de turvação de levedura. Os

tratamentos foram distribuídos por microplacas de 96 poços em triplicata. As microplacas foram incubadas à $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas. Para avaliação da MIC, foram adicionados a cada tratamento 10-20 µL de resazurina. Após uma hora foi visualizada a coloração e 10 µL de cada tratamento foram distribuídos em placas de Petri contendo 20 mL de ágar Sabouraud Dextrose tratadas com ceftriaxona (1:1000). Por fim, as placas de Petri foram armazenadas à $36 \pm 1^\circ\text{C}$. O crescimento das leveduras ou ausência dele foi observado após 24 horas.

Resultados e Discussão:

Na técnica de difusão em Agar, observou-se a presença de halos de inibição em diversas concentrações para diversas espécies. Nos tratamentos com óleo de gergelim torrado, obteve-se inibição do crescimento fúngico para *C. albicans* nas concentrações de 100%, 90%, 50%, 20% e 10%. Para *C. glabrata* houve formação de halo para todas as concentrações. Para *C. krusei* houve formação de halo nas concentrações 100%, 90%, 80%, 50%, 20% e 10%. Para *C. parapsilosis* houve formação de halo para todas as concentrações. Salienta-se que houve grande variação entre as repetições, observado pelos desvios padrões elevados, que pode ser devido a falhas na solubilização do óleo e migração de substâncias presentes nele com pouca dissociação no ágar.

Óleos são compostos hidrofóbicos, o que dificulta sua no ágar, o que poderia explicar também as variações nos diâmetros dos halos nas diferentes concentrações e a diferença de resultados entre as duas técnicas.

Nos tratamentos com óleo de gergelim natural houve formação de halo de inibição em *C. albicans* na concentração de 10%. Para *C. glabrata* em todas as concentrações. Para *C. krusei* nas concentrações de 90%, 80% e 10%. Para *C. parapsilosis* na concentração de 90%.

Os tratamentos com óleo de gergelim na microdiluição, após serem plaqueados, não apresentaram crescimento a partir da concentração de 80% para *C. albicans*, demonstrando uma possível ação fungicida. Para *C. glabrata*, quando adicionada a resazurina, houve mudança de coloração para rosa apenas nas concentrações de 90% para ambos os óleos. Para *C. krusei*, quando adicionada a resazurina, houve mudança de coloração para rosa apenas nas concentrações de 90% para o óleo natural e 70% no óleo torrado. Para *C. parapsilosis*, quando adicionada a resazurina, houve mudança de coloração apenas no tratamento de 90% do óleo natural, sendo que no plaqueamento, houve crescimento apenas na

concentração de 90% para ambos os óleos. A variação dos resultados na coloração com a resazurina sugere que esta substância pode não ser um bom indicador de viabilidade celular para leveduras.

Outro aspecto da técnica de microdiluição observado neste estudo foi o crescimento das leveduras, caracterizado pela coloração rosa da resazurina e crescimento em Agar (plaqueamento), em diluições de DMSO a 20%, com variação entre as espécies. Isto poderia indicar uma sensibilidade espécie-específica para este solvente a partir dessa concentração. Estudos comprovam que o DMSO em determinadas concentrações tem ação no crescimento fúngico que podem alterar os resultados da CIM em ensaios para testes de antifúngicos insolúveis em água (RANDHAWA, 2006; HAZEN, 2012). Diversas variantes podem ser consideradas como possíveis influências em todas as etapas do estudo. Sabe-se que existem vários tipos de sementes de gergelim, sendo 16 gêneros e entre 36 e 60 espécies encontradas em áreas tropicais e subtropicais (CALDWELL, 1958; NAMIKI, 2007), além de diferentes métodos de cultivo e extração que podem influenciar a composição química (ANTONIASSI et al, 2013) e consequente ação dos óleos. Apesar disso, não se observou diferença evidente na ação entre os dois tipos de óleo. É de grande importância avaliar a composição química desses óleos comerciais para avaliar se há variação da composição química entre eles, bem como definir quais desses compostos são responsáveis por essa ação. Sabe-se que o óleo de gergelim possui em sua composição ácido oleico (28,6%), linoleico (28,4%) e láurico (14,6%) (GUIMARÃES et al., 2013) e que esses compostos têm ação antibacteriana e antifúngica comprovada por alguns autores (TANGWATCHARIN et al, 2012; TAKAHASHI et al, 2012; ABUBACKER et al, 2014). O DMSO é um solvente comercial que tem capacidade para penetrar na pele e outras membranas biológicas. Devido a isto, ele pode ser utilizado como um dispositivo de transporte de moléculas pequenas através dessas membranas biológicas. Esse mecanismo pode ser elucidado como responsável por uma ação antifúngica, proporcionando que os óleos de gergelim penetrem nas espécies de *Candida*, causando danos ao microrganismo e até mesmo que o DMSO isoladamente já possua essa capacidade. É possível que juntos, esses compostos possuam uma ação sinérgica. Além disso, alguns autores comprovam que o DMSO quando utilizado como solvente pode modificar a CIM para compostos insolúveis,

influenciando no crescimento de *Candida* e na ação desses compostos (HAZEN, 2013).

Conclusões:

O presente estudo motiva maiores investigações a respeito da ação antifúngica do óleo de gergelim natural e óleo de gergelim torrado, bem como sua combinação com o DMSO. Estudos a respeito do óleo de gergelim são importantes principalmente para população menos favorecida, já que são de fácil acesso e baixo custo, podendo se tornar uma alternativa cientificamente comprovada para o tratamento de dermatomicoses e onicomicoses causadas por *Candida*.

Referências bibliográficas

- ABUBACKER, M.N.; DEVI, P.K. In vitro antifungal potentials of bioactive compound oleic acid, 3-(octadecyloxy) propyl ester isolated from *Lepidagathis cristata* Willd. (Acanthaceae) inflorescence. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, v. 7, n. 1, p. 190-191. 2014.
- ANTONIASSI, R. et al. Effect of cultivation conditions on the composition of sesame seed and oil. *Revista Ceres*, v. 60, n. 3. 2013.
- CALADO, N.B. Frequência e etiologia das dermatomicoses em pacientes atendidos no hospital Giselda Trigueiro, Natal/RN. 2005. 94 f. Tese (Pós-Graduação em Ciências da Saúde) – Centro de ciências da saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. 2005.
- CALDWELL, R. W. Sesame Meal. In: *Processed protein foodstuffs*. New York, Academic Press, p. 535-556. 1958.
- CAPRIOTTI, K.; CAPRIOTTI, J.A. Dimethyl Sulfoxide: History, Chemistry, and Clinical Utility in Dermatology. *The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology*, v. 5, n. 9, p. 24-6. 2012.
- GUIMARÃES, R. C. A. et al. Sesame and flaxseed oil: nutritional quality and effects on serum lipids and glucose in rats. *Food Science and Technology*, v. 33, n. 1, p. 209- 217. 2013.
- HAZEN, KC. Influence of DMSO on antifungal activity during susceptibility testing in vitro. *Diagnostic Microbiology Infectious Disease*, v 75, n. 1, p. 60-63. 2013.
- HWANG, L.S. Sesame oil, in: Shahidi, F (Ed.) *Bailey's Industrial Oil & Fat Products*. 6ª edição. New York, Wiley-Interscience. p.537-75. 2005.
- MARAKI, S.; MAVROMANOLAKI, V.E. Epidemiology of onychomycosis in Crete, Greece: a 12-year study. *Mycoses*. doi: 10.1111/myc.12533, 2016. 12
- MARTINCHIK, A.N.. Nutritional value of sesame seeds. *Voprosy Pitaniia Journal*, v. 80, n. 3, p. 41-43, 2011.
- NAMIKI, M. Nutraceutical Functions of Sesame: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 47, p. 651-673. 2007.
- NARASIMHULU C.A. et al. Anti-Atherosclerotic and Anti-Inflammatory Actions of Sesame Oil. *Journal Of Medicinal Food*, v. 18, p. 11–20, 2015.
- NARDIN, M.E.; PELEGRI, D.G.; MANIAS, V.G. Etiological agents of dermatomycoses isolated in a hospital of Santa Fé City, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, v. 38, p. 25-27, 2006.
- SALEM, M.L.; HOSSAIN, M.S. Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* against murine cytomegalovirus infection. *International Journal of Immunopharmacology*, v. 22, n. 9, p. 729-40, 2000.
- SWANSON, B.N. Medical use of dimethyl sulfoxide (DMSO). *Reviews in Clinical & Basic Pharmacology*, v. 5, n. 1-2, p. 1-33. 1985.
- TAKAHASHI, M. et al. Inhibition of *Candida* mycelia growth by a medium chain fatty acids, capric acid in vitro and its therapeutic efficacy in murine oral candidiasis. *Medical Mycology Journal*, v. 53, n. 4, p. 255-261. 2012.
- TANGWATCHARIN, P.; KHOPAIBOOL, P. Activity of virgin coconut oil, lauric acid or monolaurin in combination with lactic acid against *Staphylococcus aureus*. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine Public Health*, v. 43, n. 4, p. 969-985. 2012.