

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Veterinária**  
**Programa de Pós-Graduação em Veterinária**



Tese

**Atividade antifúngica *in vitro* de diferentes extratos de *Olea europaea* L.,  
variedades Arbequina e Picual, frente à fungos de importância em medicina  
veterinária**

**Otávia de Almeida Martins**

Pelotas, 2022

**Otávia de Almeida Martins**

**Atividade antifúngica *in vitro* de diferentes extratos de *Olea europaea* L.,  
variedades Arbequina e Picual, frente à fungos de importância em medicina  
veterinária**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientador: Mário Carlos Araújo Meireles

Co-orientadora: Renata Osório de Faria

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

M379a Martins, Otávia de Almeida

Atividade antifúngica *in vitro* de diferentes extratos de *Olea europaea* L., variedades Arbequina e Picual, frente à fungos de importância em medicina veterinária / Otávia de Almeida Martins ; Mário Carlos Araújo Meireles, orientador ; Renata Osório de Faria, coorientadora. — Pelotas, 2022.

86 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Oliveiras. 2. *Candida* spp.. 3. *Microsporium gypseum*. 4. *Sporothrix brasiliensis*. I. Meireles, Mário Carlos Araújo, orient. II. Faria, Renata Osório de, coorient. III. Título.

CDD : 636.0895

Otávia de Almeida Martins

Atividade antifúngica *in vitro* de diferentes extratos de *Olea europaea L.*, variedades Arbequina e Picual, frente à fungos de importância em medicina veterinária

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 07/04/2022

Banca examinadora:

Prof. Dr. Mário Carlos Araújo Meireles (Orientador)  
Doutor em Microbiologia e Imunologia pela Universidade UNIFESP

Prof<sup>a</sup>. Dra. Ana Raquel Mano Meinerz  
Doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

MV. Dra. Luiza da Gama Osório  
Doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Cristiano Silva da Rosa  
Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal de Pelotas

Prof<sup>a</sup>. Dra. Renata Osório de Faria (suplente)  
Doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**Dedico essa tese de doutorado a todas as pessoas que me apoiaram durante esse processo. A meus pais que sempre incentivaram a me dedicar ao estudo e a minha família por ser meu alicerce em todas as fases da minha vida. Dedico esse título de doutora a todos vocês com muito amor e com a certeza de que estarão presentes em todas minhas próximas conquistas!**

## **Agradecimentos**

Agradeço à Deus por iluminar meu caminho e permitir que eu realizasse essa conquista.

Para a conclusão desta etapa foi necessário a colaboração de muitas pessoas, que ao longo destes anos contribuíram para que eu obtivesse êxito.

Primeiramente, agradeço a minha família, meus pais, Otávio e Lúcia, minhas irmãs, Rita e Alessandra e a Tia Fá, pelo carinho, amor, incentivo e por todo o apoio, compreensão e ajuda, imprescindíveis para que eu alcançasse esse objetivo, pois sempre estiveram ao meu lado.

Ao meu orientador, Professor Mário Carlos Araújo Meireles, pelo carinho e por oportunizar esse trabalho.

À minha co-orientadora, Professora Renata Faria, pela amizade, disponibilidade, empenho, apoio e confiança, ainda mais nesta reta final, serei eternamente grata.

À Márcia Ripoll, minha companheira de projeto, minha amiga, que esteve todo tempo comigo não só dividindo o trabalho e a bancada, mas como também participou da minha vida, sempre com uma palavra de conforto e incentivo, tu foi essencial para a realização de todo projeto.

À Elisa Remini, Mariana Paim e Feng Yu Hua, pelo acompanhamento, incentivo, orientação e força durante o processo.

Aos amigos, que aqui torna inviável listar cada um que tiveram um papel tão importante na minha vida, que apoiaram os meus sonhos e entenderam meus períodos de ausência. Sou muito grata por vocês existirem na minha vida, meu muito obrigada!

Ao meu namorado, Rafael Tavares, que chegou junto com a reta final do doutorado e precisou ter paciência e compreensão com todos meus “eus” desta última fase. Obrigada!

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelo auxílio financeiro. Assim como à Universidade Federal de Pelotas e ao Programa de Pós-graduação em Veterinária por me oportunizarem o doutorado.

*O vinho não é a única coisa a cantar  
O azeite de oliva também canta  
Ele vive em nós com sua luz madura  
E entre as boas coisas da terra  
Eu distancio  
O azeite de oliva,  
Sua inesgotável paz, sua essência verde  
Seu tesouro repleto que descende  
Das fontes abundantes da oliveira.  
(Pablo Neruda, Ode ao azeite de oliva)*



## Resumo

MARTINS, Otávia de Almeida. **Atividade antifúngica *in vitro* de diferentes extratos de *Olea europaea* L., variedades Arbequina e Picual, frente à fungos de importância em medicina veterinária.** 2022. 86f. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

A oliveira (*Olea europaea* L.) é uma das frutíferas mais antigas, amplamente cultivada no mundo e de grande importância no mercado alimentício. No Brasil, as condições tropicais favorecem o crescimento vegetativo da planta. A resistência às drogas na terapia antifúngica e o uso de plantas medicinais como uma abordagem para melhorar a eficácia desses fármacos. Com base na busca por novas substâncias e no crescente surgimento de micro-organismos resistentes que o objetivo desse estudo foi avaliar a atividade antifúngica dos resíduos da indústria de oliveiras (*Olea europaea* L.), como o bagaço (variedade Picual) e partes vegetativas de cultivares de oliveira das variedades Arbequina e Picual, frente a *Candida* spp., *Microsporium gypseum* e *Sporothrix brasiliensis*. A metodologia para os testes de sensibilidade *in vitro* foi referenciada pelo documento M27-A3 preconizado pelo CLSI para as leveduras e protocolo M38-A2, para fungos filamentosos, ambos adaptados para uso de fitoterápicos. No estudo foram utilizados 15 isolados, isolados de *Candida* spp., sete isolados de *Microsporium gypseum* e 15 isolados de *Sporothrix brasiliensis*. A atividade antifúngica dos extratos hidroalcoólicos de folhas de *Olea europaea* L. se sobressaíram no resultado final de todo experimento seguido do extrato aquoso de decocção. Os extratos hidroalcoólicos do bagaço da variedade Picual e das folhas das variedades Picual e Arbequina apresentaram atividade fungistática promissora frente aos isolados de *Microsporium gypseum*. Os resultados demonstram utilidade potencial desses extratos no tratamento da dermatofitose, no entanto mais estudos devem ser realizados frente as demais espécies de dermatófitos para comprovação de sua efetividade, além de testes de citotoxicidade para avaliar seu uso seguro frente a casos clínicos dessa micose. Os extratos de infusão e hidroalcoólicos das folhas da variedade Picual apresentaram maior ação inibitória especialmente frente aos isolados de *Candida* spp. e *Sporothrix brasiliensis*, apresentando parâmetros importantes para apontar os produtos como uma alternativa terapêutica após próximos testes, verificação da citotoxicidade e utilização em modelos *in vivo*, incentivando seu potencial de aplicação. Nesta tese foi incluída, ainda, uma revisão de literatura que teve como objetivo relatar tanto a atividade antimicrobiana de extratos de *Olea europaea* L., quanto comparar os testes realizados e tipos de variedades utilizadas de *papers* publicados entre os anos de 2000 a 2018.

**Palavras-chave:** Oliveiras; *Candida* spp.; *Microsporium gypseum*; *Sporothrix brasiliensis*.

## Abstract

MARTINS, Otávia de Almeida. **In vitro antifungal activity of different extracts of *Olea europaea* L., Arbequina and Picual varieties, against fungi of importance in veterinary medicine** 2022. 86f. Thesis (Doctor degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

The olive tree (*Olea europaea* L.) is one of the oldest fruit trees, widely cultivated in the world and of great importance in the food market. In Brazil, tropical conditions favor the vegetative growth of the plant. Drug resistance in antifungal therapy and the use of medicinal plants as an approach to improve the effectiveness of these drugs. Based on the search for new substances and the growing emergence of resistant microorganisms, the objective of this study was to evaluate the antifungal activity of residues from the olive industry (*Olea europaea* L.), such as bagasse (Picual variety) and vegetative parts of olive cultivars of Arbequina and Picual varieties, against *Candida* spp., *Microsporium gypseum* and *Sporothrix brasiliensis*. The methodology for the in vitro sensitivity tests was referenced by the M27-A3 document recommended by the CLSI for yeasts and the M38-A2 protocol for filamentous fungi, both adapted for the use of herbal medicines. In the study, 15 isolates, *Candida* spp. isolates, seven *Microsporium gypseum* isolates and 15 *Sporothrix brasiliensis* isolates were used. The antifungal activity of the hydroalcoholic extracts of leaves of *Olea europaea* L. stood out in the final result of the whole experiment followed by the aqueous extract of decoction. The hydroalcoholic extracts of the bagasse of the Picual variety and the leaves of the Picual and Arbequina varieties showed promising fungistatic activity against the isolates of *Microsporium gypseum*. The results demonstrate the potential usefulness of these extracts in the treatment of dermatophytosis, however more studies should be carried out against other species of dermatophytes to prove their effectiveness, in addition to cytotoxicity tests to evaluate their safe use in clinical cases of this mycosis. The infusion and hydroalcoholic extracts from the leaves of the Picual variety showed greater inhibitory action, especially against *Candida* spp. and *Sporothrix brasiliensis*, presenting important parameters to point out the products as a therapeutic alternative after further tests, verification of cytotoxicity and use in in vivo models, encouraging their application potential. This thesis also included a literature review that aimed to report both the antimicrobial activity of *Olea europaea* L.

**Keywords:** Olive trees; *Candida* spp.; *Microsporium gypseum*; *Sporothrix brasiliensis*.

## Lista de Figuras

Figura 1	Cultivo de oliveiras.....	17
Figura 2	Azeitonas da cultivar Arbequina.....	20
Figura 3	Azeitonas da cultivar Picual.....	21

## Lista de Tabelas

Tabela 1	Características de algumas variedades de oliveira com resultados promissores para exploração comercial, no Estado do Rio Grande do Sul.....	19
----------	---	----

### Artigo 1

Tabela 1	Estudos sobre a atividade antimicrobiana de extratos de oliveira ( <i>Olea europaea</i> ).....	36
----------	--	----

### Artigo 2

Tabela 1	Concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos do bagaço de <i>Olea europaeae</i> L. da variedade Picual frente a isolados/cepas dos fungos causadores de candidose, dermatofitose e esporotricose, nos anos de 2018 e 2019.....	55
Tabela 2	Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos folha de <i>Olea europaeae</i> L. das variedades Arbequina e Picual, frente a isolados/cepas de fungos causadores de candidose, dermatofitose e esporotricose, nos anos de 2018, 2019 e 2021.	57

## Sumário

<b>1 Introdução.....</b>	<b>12</b>
<b>2 Objetivos.....</b>	<b>15</b>
<b>2.1 Geral.....</b>	<b>15</b>
<b>2.2 Específicos.....</b>	<b>15</b>
<b>3 Revisão da Literatura.....</b>	<b>16</b>
<b>3.1 <i>Olea europaea</i> L.....</b>	<b>16</b>
<b>3.2 Cultivares Arbequina e Picual.....</b>	<b>18</b>
<b>3.3 Atividades antifúngicas de extratos vegetais.....</b>	<b>21</b>
<b>3.4 Candidose.....</b>	<b>22</b>
<b>3.5 Dermatofitose .....</b>	<b>23</b>
<b>3.6 Esporotricose.....</b>	<b>25</b>
<b>4 Artigos.....</b>	<b>27</b>
<b>4.1 Artigo 1.....</b>	<b>27</b>
<b>4.2 Artigo 2.....</b>	<b>48</b>
<b>5 Considerações Finais.....</b>	<b>65</b>
<b>Referências.....</b>	<b>66</b>

## 1 Introdução

A oliveira (*Olea europaea* L.), pertencente à família *Oleaceae*, apresenta mais de trinta gêneros e é uma das mais importantes árvores frutíferas dos países mediterrâneos e desde a pré-história é de grande importância para o homem (COUTINHO et al., 2009; CAVALHEIRO et al., 2014). Por seleção iniciou-se o melhoramento genético da espécie em diferentes habitats humanos à volta do Mediterrâneo, transformando assim a oliveira selvagem (*Olea europea*, var. *sylvestris/oleaster*) nas atuais variedades da *Olea europaea* L., que hoje já se disseminaram por todos os continentes (BOHM, 2013; VOGEL et al., 2014; ÖZCAN; MATTHÄUS, 2017). Desenvolvendo-se assim cultivares com diferentes características e resistência climática, como as cultivares Manzanilla, Koroneike, Arbosana, Arbequina e Frantoio (KOSTELENOS; KIRITSAKIS, 2017).

Os frutos da oliveira servem de matéria-prima para a extração do azeite e para a produção de azeitonas conservadas (KIRITSAKIS et al., 2010; HERRERO et al., 2011). O azeite de oliva é constituído em sua maior parte por lipídeos, sendo a maioria constituída pelos ácidos graxos monoinsaturados, principalmente o ácido oleico (ABRUNHOSA, 2009).

Na indústria oleícola, aproximadamente 20% da matéria prima (azeitonas) é convertida em azeite, o restante faz parte dos resíduos, líquidos e sólidos. Dentre os resíduos sólidos obtidos a partir da extração do azeite se tem um grande número de folhas, consideradas coprodutos da olivicultura, que são descartadas durante o ciclo de produção e representam cerca de 10% do peso total das azeitonas destinadas ao processamento (KIRITSAKIS et al., 2010; HERRERO et al., 2011). Além do bagaço, que é composto por partes trituradas de epicarpo, polpa e caroço, que é descartado pela indústria e tem potencial para ser utilizado em pesquisas quanto a sua atividade antimicrobiana, sendo necessário para tal o conhecimento da sua toxicidade (ALCAIDE et al., 2010).

As propriedades das folhas de oliveira, associadas à necessidade de valorizar a sua utilização, demonstram a importância de estudar o seu real potencial biológico. A exploração industrial das folhas pode representar uma opção de valorização do plantio

de oliveiras, devido ao aumento da demanda por produtos naturais por diversos segmentos industriais, como alimentício e farmacêutico (FERNÁNDEZ-BOLAÑOS et al., 2006; GUINDA, 2006; ROIG et al., 2006). A composição bioativa das folhas de oliveira varia de acordo com a variedade, cultivar, região de cultivo e condições edafoclimáticas. A presença de compostos na folha de oliveira torna-a um material complexo, que inclui flavonóides e seus derivados glicosilados, secairidoides e seus derivados, fenóis e ácidos simples e derivados fenólicos (VISIOLI et al., 2002; FARAG et al., 2007; MALHEIRO et al., 2013). A atividade antimicrobiana é uma propriedade muito importante dos compostos presentes nas folhas de oliveira (SUDJANA et al., 2009; RAFIEI et al., 2012; GHOMARI et al., 2019; BAYRAM et al., 2020).

Na literatura tem-se verificado o registro da eficiência de extratos vegetais, obtidos de diversas espécies botânicas, na promoção da inibição do desenvolvimento de vários patógenos. As infecções causadas por bactérias e fungos, assim como a sucessiva resistência desses micro-organismos continuam com alta incidência. Desse modo, estudos com plantas medicinais, desenvolvimento de novos compostos antifúngicos e novas abordagens terapêuticas e sua combinação à terapia convencional, fazem-se essenciais para o controle dessas enfermidades (REICHLING et al., 2009).

A dermatofitose e a esporotricose são micoses zoonóticas importantes e de risco a saúde pública, compondo grande parte da casuística em laboratórios de micologia veterinária. Micro-organismos comensais, como leveduras do gênero *Candida*, são capazes de desenvolver infecções fúngicas superficiais em indivíduos saudáveis como também infecções sistêmicas em pacientes debilitados. Tais infecções, podem ser decorrentes de alterações no sistema imunológico, rompimento de barreiras anatômicas e alterações na microbiota normal do hospedeiro (PFALLER; DIEKEMA, 2004; SIDRIM; ROCHA, 2004; ZOMORODIAN et al., 2011).

Na Medicina Veterinária têm sido sugeridas terapias alternativas, a fim de amenizar problemas de resistência antimicrobiana e alta toxicidade de um número considerável de fármacos antifúngicos, ressaltando que essa classe de fármacos representam um espectro reduzido de opções quando comparados aos antibacterianos, o que torna ainda mais justificável o uso de princípios ativos frente aos agentes fúngicos (PATERSON, 2017; ROSSI; ZANETTE, 2018).

Nesse sentido estudos observaram que substâncias como extratos vegetais e fitoterápicos geralmente são menos tóxicos quando comparados as terapias tradicionais ainda disponíveis, que frequentemente apresentam hepatotoxicidade com seu uso prolongado. O aumento dos relatos de infecções fúngicas que apresentam-se resistentes direcionou a busca de estratégias alternativas, a fim de identificar novas abordagens fitoterapêuticas. Deste modo, as diferentes atividades dos subprodutos da cadeia da olivicultura vem sendo estudadas e são promissoras, demonstrando grandes perspectivas voltadas também para a produção de fármacos.

Foi com base nessa constante busca por novas substâncias, o crescente surgimento de micro-organismos resistentes aos fármacos, além das questões limitantes relacionadas a terapêutica antifúngica, que se justificou a realização do presente estudo o qual buscou avaliar a atividade antifúngica dos resíduos da indústria (bagaço) e de partes vegetativas de cultivares de oliveira das variedades Arbequina e Picual, frente de *Candida* spp., *Microsporium gypseum* e *Sporothrix brasiliensis*.



## **2 Objetivos**

### **2.1 Geral**

Avaliar a atividade antifúngica dos extratos de diferentes variedades de oliveira frente à fungos leveduriformes e fungos de carácter zoonótico, obtidos de casos clínicos de pequenos animais, armazenados na micoteca do Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Micologia Veterinária (MicVet) da Faculdade de Veterinária (FaVet) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

### **2.2 Específicos**

Avaliar atividade antifúngica *in vitro* dos extratos aquosos e hidroalcoólico do bagaço de *Olea europae* L. da variedade Picual frente à isolados/cepas de *Candida* spp., *Microsporum gypseum* e *Sporothrix brasiliensis* , nos anos de 2018 e 2019.

Avaliar atividade antifúngica *in vitro* dos extratos aquosos e hidroalcoólico das folhas de *Olea europae* L. da variedade Arbequina e Picual frente à isolados/cepas de *Candida* spp., *Microsporum gypseum* e *Sporothrix brasiliensis* , nos anos de 2018 e 2019 e 2021.

### **3 Revisão da Literatura**

#### **3.1 *Olea europaea* L.**

A oliveira (*Olea europaea* L.), pertence à família *Oleaceae*, apresenta mais de trinta gêneros e é uma das frutíferas mais antigas utilizadas pelo homem. Característica da região Mediterrânea é amplamente cultivada no mundo e de grande importância no mercado alimentício por conta de seus produtos, o azeite e a azeitona (CAVALHEIRO et al., 2014).

Seu cultivo tem se expandido no país, de forma a assegurar sua qualidade, sem as interferências da grande cadeia logística que passa dos países produtores (mediterrâneo) para chegar aos consumidores brasileiros, e sem também sofrer modificações no que tange as fraudes criadas nos países fornecedores. Poucos são os conhecimentos agrônômicos e fitoquímicos dos materiais produzidos no país, como também de seus subprodutos, uma vez que grande parte dos materiais resultantes de poda dos olivais e da extração do azeite são todos descartados, sem destino produtivo (BERTONCINI et al., 2010).

As folhas dessa planta são consideradas um subproduto gerado em grande quantidade na prática da olivicultura. Historicamente, as folhas de oliveira são usadas empiricamente para fins medicinais, como o combate a febres, além disso, reconhecidamente possuem compostos com potencial antioxidante e antimicrobiano (PACETTA, 2013).

O Brasil está posicionado entre os 10 países de maior consumo de azeite no mundo, com destaque para as regiões sul e sudeste, em virtude dos fatores climáticos favoráveis à floração e frutificação (IOC, 2018). Dados da Companhia Nacional do Abastecimento mostram que, em 2016, nos meses de janeiro a setembro, foram importadas, aproximadamente, 38 mil toneladas de azeite de oliva, movimentando um montante de quase US\$ 186 milhões. No entanto, atualmente, o Brasil é o terceiro maior importador de azeitona (105,8 mil t), depois dos Estados Unidos (135,4 mil t) e da Rússia (135,9 mil t) e o sexto em importação de azeite (71 mil t) (BRASIL, 2020). Devido ao grande mercado consumidor brasileiro para azeite e azeitona de mesa nos

últimos 10 anos, projetos tem sido implementados nos estados das regiões Sudeste e Sul para o desenvolvimento da olivicultura, visando diminuir a dependência por estes produtos. Assim, a cultura vem ganhando importância e têm aumentado anualmente, principalmente nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Minas Gerais, sendo que a cultivar Arbequina representa cerca de 50% dessa produção (RIZZO; ARGUMEDO, 2011; FAOSTAT, 2017). Devido a fácil adaptação às adversidades ambientais é um dos cultivares produtivos que vem se destacando no Rio Grande do Sul (Figura 1). No entanto, a maioria dos estudos desenvolvidos é direcionada ao manejo e produção e poucos tratam de métodos alternativos na produção de mudas, o que limitam informações a esse respeito (RAMOS, 2018).

**Figura 1:** Cultivo de oliveiras



**Fonte:** <https://acientistaagricola.pt/cultura-oliveira>

O Rio Grande do Sul é considerado o líder nacional de produção de oliveira, segundo dados obtidos da Secretaria da Agricultura do RS. A safra atual deve produzir cerca de 70 mil litros de azeite de oliva no estado, esse número é 15 mil litros a mais que o produzido em 2017. A área cultivada de oliveiras aumentou neste ano cerca de 30%, chegando a mais de três mil hectares em todo o estado (IBRAOLIVA, 2020).

Ao longo dos anos, muitas cultivares de azeitonas foram desenvolvidas para se adequar as condições de cultivo, sendo que as quatro principais cultivares para produção de azeite são: Koroneiki na Grécia, Frantoio na Itália, Arbequina na Espanha e Mission nos Estados Unidos da América (KOSTELENOS; KIRITSAKIS, 2017). Existe uma grande gama de cultivares, com características próprias e resistência a estresses que permitem o plantio da oliveira em vários locais do planeta, no estado do Rio Grande do Sul são as cultivares Arbequina, Manzanilla e Picual (COUTINHO et al., 2009). Considerando a importância que as oliveiras e seus produtos representam para o mercado brasileiro, entidades governamentais incentivaram o seu

cultivo por pequenos produtores no país (TERAMOTO et al., 2010), que até o final de 2020 apresentava área cultivada equivalente a 6.200 ha apenas no Rio Grande do Sul, embora somente 35% esteja em idade produtiva (4 anos) (DO SUL, 2022).

Além da importância econômica, os produtos da oliveira são benéficos à saúde humana, pois possuem nutrientes importantes, tais como ácidos graxos insaturados, vitaminas e compostos fenólicos. O óleo extraído dos frutos da oliveira, denominado de azeite de oliva é constituído em sua maior parte por lipídeos, sendo a maioria constituída pelos ácidos graxos monoinsaturados, principalmente o ácido oleico (CAVALHEIRO et al., 2014). Os compostos bioativos do azeite são ricos em substâncias com propriedades terapêuticas como carotenos, tiamina e riboflavina (ARANTES, 2008; ABRUNHOSA, 2009) além dos compostos fenólicos, que podem ser obtidos a partir de todos os órgãos da planta (BRAVO, 1998) que são responsáveis pela ação antimicrobiana *in vitro* (TALHAOUI et al., 2015).

### **3.2 Cultivares Arbequina e Picual**

Existem diversos cultivares de oliveiras que produzem azeitonas com diferentes tamanhos, formas, firmeza, relação polpa/caroço e facilidade de desprendimento da polpa do caroço. Algumas cultivares são indicadas para a produção de azeite e outras para a produção de azeitonas de mesa, podendo ainda ter cultivares com dupla aptidão. As cultivares encontradas no Rio Grande do Sul, são Arbequina, Picual, Koroneiki, Frantoio, Arbosana, Coratina, Ascolana, Manzanilla, Leccino e Hojiblanca (COUTINHO, 2007). A composição das folhas de oliveira pode variar dependendo de fatores como cultivar, clima, solo, regime de irrigação, e estado de desenvolvimento da planta e exige a adaptação às características climáticas (precipitação, temperatura, humidade) associadas a latitudes e altitudes diferentes das correspondentes às regiões autóctones olivícolas (NOGUEIRA, 2012). Em consequência, o óleo obtido de ambientes fora da bacia mediterrânea pode diferir em qualidade e composição daqueles provenientes de regiões mediterrâneas tradicionais (GARCÍA-GONZÁLEZ; APARICIO, 2010; RONDANINI et al., 2014). Além das condições climáticas e da área geográfica, muitos outros fatores, como cultivar, maturação dos frutos e práticas agrícolas, também podem influenciar a composição e a qualidade dos azeites (DABBOU et al., 2010; RONDANINI et al. 2011; BAKHOUCHE et al., 2013).

As culturas atuais são, devido ao desenvolvimento geracional, o resultado dessas propagações vegetativas, consequência de um longo processo biológico que se consolidou em todos os espaços naturais da bacia mediterrânea (ALVES, 2010). Existem cerca de 30 gêneros e cerca de 600 espécies de oliveiras espalhadas por toda a geografia mundial, a maioria das quais, no entanto, localizadas na bacia do Mediterrâneo. O gênero *Olea* engloba cerca de 35 espécies incluindo a espécie *Olea europaea* L. que é a única com frutas comestíveis (MESQUITA et al., 2010).

A produção mundial de azeite é de cerca de 3 milhões de toneladas por ano, sendo que cerca de metade desta é produzida na Espanha, sendo Picual a cultivar mais importante cultivada neste país, no entanto o número de oliveiras da cultivar Arbequina está aumentando na Espanha e também em todo o mundo, como resultado da crescente valorização das características organolépticas do seu óleo e da boa adaptação da árvore ao cultivo em sebes de alta densidade (Tabela 1) (COUTINHO, et al., 2009). Ambas as cultivares de azeitona destinam-se principalmente à produção de azeite, que dá origem ao bagaço de azeitona (alperujo) e às folhas como principais subprodutos, ambos ricos em substâncias bioativas como compostos fenólicos e ácidos triterpênicos. Verificou-se que possuem propriedades importantes, como efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, antimicrobianos e antitumorais, entre outros (LOZANO-MENA, et al., 2014; TALHAOUI, et al., 2015).

**Tabela 1:** Características de algumas variedades de oliveira com resultados promissores para exploração comercial, no Estado do Rio Grande do Sul (COUTINHO, et al., 2009).

Variedades	Origem	Destino	H.C.	Precocidade	Vigor	D.C.
Arbequina	Espanha	azeite	aberto	precoce	baixo	média
Picual	Espanha	azeite	aberto	precoce	médio	espessa

H.C.: Hábito de crescimento; D.C.: Densidade da copa.

A cultivar Arbequina tem como características marcantes folhas verdes escuras no verso e verde esbranquiçada no reverso com pecíolo forte, seus frutos (Figura 2) são pequenos elípticos e simétricos, com mesocarpo muito aderente, tem rendimento graxo de aproximadamente 20%, sendo que o azeite possui baixo conteúdo de ácido linoléico. É autofértil, com florada abundante, apesar de ser autofecunda é recomendável a associação da mesma com outras variedades para facilitar a

polinização e aumentar a produtividade (GOMES, 1979; GUERRERO, 2003). A finalidade dessa cultivar é a produção de azeite. É resistente ao frio, suportando temperaturas abaixo de 0° C. Tem precocidade e elevada produção e resistência a solos alcalinos e a qualidade do azeite dessa cultivar é excelente, apreciado pelo seu sabor suave (BARRANCO, 2008), além de sua fácil adaptação a sistemas de cultivo de alta densidade e novas condições ambientais, tamanho pequeno, precocidade, alto rendimento e boa qualidade do óleo e outras características agrônômicas, como flexibilidade de ramos e fácil abscisão dos frutos (RONDANINI et al., 2011).

**Figura 2:** Azeitonas da cultivar Arbequina



Fonte: Embrapa Clima Temperado

A cultivar Picual é a variedade mais importante do mundo, representando 50% das oliveiras e árvores da Espanha e, portanto, aproximadamente 20% do mundo. A sua distribuição geográfica está claramente ligada à Andaluzia, a principal região produtora mundial, e especificamente às províncias de Jaén, Córdoba e Granada. Essa variedade recebe nomes diferentes dependendo da área de produção, mas seu nome principal se deve ao formato do fruto (Figura 3) de tamanho médio, forma elíptica e atingir ao maturidade, apresenta uma cor preta. Destaca-se pelo alto rendimento de gordura, rápida entrada na produção e fácil mecanização durante a colheita, seu óleo tem grande estabilidade oxidativa, de qualidade mediana, porém destaca-se pelo alto índice de estabilidade e elevado conteúdo de ácido oléico (GONZÁLEZ, 2016) é vigorosa e fácil de cultivar, muito produtiva, embora não seja muito resistente a solos calcários, no entanto, é considerada uma variedade auto-fértil, multiplica-se facilmente por estacas semi-lenhosas, possui a capacidade de suportar bem as geadas, além de se adaptar a diversas condições climáticas e de solo, a maturação de seus frutos acontece, em geral, entre a segunda semana de novembro e a terceira de dezembro, com um tempo médio de maturação de aproximadamente 40 dias. Com azeitonas de

entrada antecipada 3,2 g de peso, com alto teor oleico e rendimento de gordura entre 21 e 25% (EXPÓSITO FERNÁNDEZ, 2021).

**Figura 3:** Azeitonas da cultivar Picual



Fonte: Revista Adega

### 3.3 Atividade antifúngica de extratos vegetais

A resistência às drogas na terapia antifúngica, um problema desconhecido até alguns anos atrás, está assumindo cada vez mais importância principalmente em pacientes imunossuprimidos, na medicina humana e veterinária. Desse modo, estudos com plantas medicinais e sua combinação à terapia convencional, fazem-se essenciais, como uma abordagem para melhorar a eficácia das terapias antifúngicas, reduzir a toxicidade e os níveis de resistência aos antimicrobianos sintéticos comerciais por patógenos associados a doenças infecciosas. Assim, o desenvolvimento de novos compostos e novas abordagens terapêuticas são de grande necessidade para o controle de infecções. (LUGMAN et al., 2007; FARIAS et al., 2008; REICHLING et al., 2009; WALLER et al., 2016a; DONADU et al., 2021).

A atividade antimicrobiana de extratos vegetais é avaliada através da determinação de uma pequena quantidade da substância necessária para inibir o crescimento do microrganismo, esse valor é conhecido como concentração inibitória mínima (CMI) (OSTROSKY et al., 2008; CORRÊA et al., 2018).

Na literatura tem-se verificado o registro da eficiência de extratos vegetais, obtidos de diversas espécies botânicas, na promoção da inibição do desenvolvimento de vários fitopatógenos de natureza fúngica. Considera-se ainda, que a diversidade dessas substâncias poderia possibilitar a utilização direta pelo produtor, por meio do cultivo da planta possuidora dos compostos secundários, preparo e aplicação direta do extrato nas culturas comerciais (CELOTO et al., 2008).

A oliveira era muito utilizada na medicina popular brasileira como produto natural, visando tratar infecções e amenizar seus sinais clínicos (FENNER et al., 2006). Da oliveira é possível extrair substâncias que apresentam ação anti-inflamatória (BENAVENTE-GARCÍA et al., 2000), antimicrobiana (BISIGNANO et al., 1999), antiviral (MICOL et al., 2005), e antitumoral (HAMDI et al., 2005), além de alto poder antioxidante (AL-AZZAWIE et al., 2006). Nas folhas de oliveira, os polifenóis hidroxitirosol e oleuropeína são os principais compostos fenólicos responsáveis pelas propriedades antimicrobinas das mesmas (PUUPPONEN-PIMIÄ, 2001; PEREIRA et al., 2006; PEREIRA et al., 2007). O problema da resistência microbiana está crescendo e, portanto, medidas devem ser tomadas para reduzi-la, como controlar o uso de antimicrobianos, desenvolver pesquisas para melhor entender o mecanismo genético da resistência e continuar a busca por novos fármacos, seja de origem natural ou sintética (NASCIMENTO et al., 2000).

### 3.4 Candidose

As leveduras do gênero *Candida* são comumente observadas como comensais da microbiota de homens e de animais, somente causando distúrbios em presença de alterações químicas, físicas e imunológicas do hospedeiro (MORETTI et al., 2004; SIDRIM; ROCHA, 2004; JACOBSEN et al., 2008). Porém, doenças atribuídas a essa levedura, denominadas candidoses, vêm apresentando um evidente aumento no número de relatos, estando em sua grande maioria relacionados a estados de imunodeficiência (FERREIRO et al., 2002; BROWN et al., 2005; JADHAV; PAL, 2006; BRITO et al., 2007; CLEFF et al., 2008).

Fatores que devem ser considerados para um possível diagnóstico são: idade, (geriátricos ou pediátricos), presença de doenças autoimunes, uso de glicocorticóides, *diabetes mellitus*, cateterismo venoso e urinário e administração de nutrição parenteral (MORETTI et al., 2004; CLEFF et al., 2008; MATSUDA et al., 2009). Assim como estresse, má nutrição, uso inadequado de antibióticos (CLEFF et al., 2007; BLANCO; GARCIA, 2008; BRITO et al., 2009b).

Apesar de ser considerada oportunista, existem relatos em animais imunocompetentes (KOZAK et al., 2003; BROWN et al., 2005). As espécies de leveduras do gênero *Candida* são encontradas em uma ampla variedade de nichos ecológicos, que vão desde o solo, água, objetos inanimados até seres humanos.



Normalmente em hospedeiros clinicamente saudáveis, elas exercem atividade saprofítica cosmopolita, colonizando a microbiota da pele e de mucosas dos tratos: digestivo, urinário, bucal e vaginal, desde o nascimento, não causando nenhum prejuízo patogênico (SILVA, 2011; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012; ALENCAR, 2013).

Atualmente, existem cerca de 200 (duzentas) espécies de leveduras do gênero *Candida*, sendo que pouco mais de 20 espécies são responsáveis por infecções em seres humanos, dentre as quais se destaca *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae*, *C. tropicalis* e *C. Krusei*, *C. fumata* e *C. rugosa*. Dessas, a *C. albicans* representa o principal patógeno, mas atualmente espécies “não albicans”, como *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*, vem sendo frequentemente descritas em casos clínicos em humanos e animais (NEGRI et al., 2010; SILVA, 2011; COLOMBO et al., 2013; NUCCI et al., 2013; VALLABHANENI et al., 2016).

A candidíase é reconhecida como grave problema de saúde pública nas regiões subdesenvolvidas, mas também é preocupante nos países desenvolvidos. A gravidade da doença, associada a condições debilitantes do paciente, leva a um aumento do tempo de internação hospitalar, acarretando elevação nos custos socioeconômicos (GIOLLO; SVIDZINSKI, 2010).

Um dos antifúngicos convencionais que são amplamente utilizados no tratamento de candidíase é o antifúngico azólico como fluconazol, voriconazol, itraconazol, cetoconazol. A maioria dos azólicos (antifúngicos) tem várias limitações nos efeitos colaterais, como erupções cutâneas, coceira, diarreia, dor abdominal, vermelhidão da pele e danos no fígado. Esse problema é exacerbado pelo surgimento de cepas de *C. albicans* que são resistentes aos grupos antifúngicos azólicos (WHALEY et al., 2017).

### **3.5 Dermatofitose**

Dermatofitoses são micoses superficiais, causadas por fungos filamentosos denominados dermatófitos que são capazes de degradar estruturas queratinizadas como pelos, unhas e pele, dependendo do estado imunológico do hospedeiro, o tamanho e a duração das lesões provocadas podem variar em maior ou menor grau (CHERMETTE et al., 2008). Frequentemente, observam-se alopecia circular demarcada com inflamação ativa na periferia, podendo apresentar crostas na região

central com prurido sendo diferenciados através de aspectos macroscópicos, microscópicos e fisiológicos (WEITZMAN; SUMMERBELL, 1995; LACAZ et AL., 2002). São classificados em três gêneros: *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*, sendo que as espécies que mais acometem cães e gatos são *M. canis*, *M. gypseum* e *T. mentagrophytes* (GIANELLI et al, 2010).

A enfermidade é cosmopolita muitas das dermatofitoses são zoonoses, altamente contagiosas e de importante risco a saúde pública, (BALDA et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2015), afetando cerca de 25% da população mundial e tem origem do contato com animais infectados, compondo grande parte da casuística em laboratórios de micologia veterinária, dessa forma, se fazem necessários métodos ágeis e confiáveis na detecção da doença. De maneira geral, o contágio se dá pelo contato direto com outros animais contaminados ou em contato com o homem. Fatores como aglomerações, umidade, estresse e imunodeficiência do animal, predispõem a doença (SILVEIRA et al., 2003; VIANI, 2015).

As infecções por dermatófitos em animais são relativamente difíceis de tratar, devido aos fungos estarem protegidos pelas hastes e folículos pilosos e, assim, o tratamento ideal consiste na associação de terapia tópica, para remover os esporos fúngicos da haste dos pelos e terapia sistêmica, para agir no folículo piloso (PATEL; FORSYTHE, 2010; MORIELLO, 2014; ROSSI; ZANETTE, 2018). Para o tratamento da dermatofitose em cães e gatos são utilizados medicamentos de uso tópico e sistêmico, no entanto, a terapia nem sempre é eficiente, o que estimula o crescimento de estirpes resistentes e a continuidade do processo infeccioso. Nas infecções por *Microsporum canis* e *M. gypseum*, o tratamento tende a ser prolongado, sendo necessário em determinados pacientes a combinações terapêuticas para obtenção da cura clínica (GIANELLI et al., 2010).

No tratamento sistêmico os antifúngicos normalmente utilizados são a griseofulvina, o cetoconazol e o itraconazol, porém a sua utilização implica em administrações diárias, por via oral e por longos períodos (60-90 dias) (PATEL; FORSYTHE, 2010; MATTEI et al., 2014; MORIELLO et al., 2017). Os produtos tópicos, geralmente são empregados antifúngicos como miconazol, cetoconazol e clotrimazol (VIANI, 2015; HNILICA; PATTERSON, 2018).

Fatores como efeitos colaterais, elevado custo das drogas e dificuldade da maioria dos proprietários em administrar medicamentos por via oral aos gatos têm tornado o tratamento e a erradicação da dermatofitose um desafio na clínica de felinos

(RAMADINHA et al., 2010). A ocorrência de casos de resistência de leveduras e de dermatófitos a antifúngicos vem fazendo com que estudos sobre a atividade antimicrobiana sejam cada vez mais frequentes (AHMAD et al. 2010; PERES, 2010).

### 3.6 Esporotricose

Esporotricose é uma micose subcutânea, de implantação, de ocorrência mundial e endêmica no Brasil (GREMIÃO et al., 2021). A enfermidade pode acometer diversas espécies e já foi descrita em equinos, cães, felinos, bovinos, suínos, camelos, primatas e no homem (ALMEIDA et al., 2018). A Esporotricose não é uma doença de notificação obrigatória no Brasil, com exceção de Pernambuco e Rio de Janeiro que possuem notificação compulsória (MILLINGTON, 2017).

A doença é ocasionada por espécies do gênero *Sporothrix*, principalmente *S. brasiliensis*, *S. schenckii* e *S. globosa*, sendo que por um longo período o *Sporothrix schenckii* foi considerado o único agente da doença. A esporotricose é considerada uma ergodermatose, pois estava relacionada a profissionais que lidavam diretamente com a terra, como: agricultores, jardineiros, sementeiros, floristas e trabalhadores florestais, que se infectavam ao se machucarem em espinhos, talos de planta ou palha contaminada, ocorrendo a inoculação do agente através da ferida (GONÇALVES et al., 2019; GREMIÃO et al., 2021). Esse fato pode ser explicado pela característica geofílica do agente que pode ser encontrado no meio ambiente, no solo, em árvores e terrenos baldios por conterem matéria orgânica e vegetação em decomposição (GREMIÃO et al., 2021).

Atualmente a espécie de maior ocorrência no Brasil é o *Sporothrix brasiliensis*, ocorrendo notificações dessa doença em todas as regiões, sendo o sudeste e o sul as regiões de maior prevalência (GREMIÃO et al., 2021). Sua importância para a saúde pública como enfermidade emergente está associada principalmente com casos que envolvem a transmissão zoonótica por mordedura, arranhadura ou contato direto com gatos infectados (BARROS, 2011). Os sinais clínicos em felinos se apresentam com lesões localizadas ou múltiplas, como úlceras, nódulos subcutâneos (que podem drenar material sero-sanguinolento) e crostas, podendo evoluir para a forma disseminada e sistêmica da doença. A forma mais comum em humanos e cães é a linfocutânea, caracterizada por envolvimento do sistema linfático, acompanhado pela ocorrência de nódulos subcutâneos, que podem evoluir para necrose, liquefação

do conteúdo e ulceração, mostrando o aspecto conhecido como cancro esporotricótico. (MORGADO et al., 2016; GREMIÃO et al., 2021).

Devido à diversidade de apresentações clínicas, ela pode se assemelhar a muitas outras doenças infecciosas e não infecciosas, tanto tegumentares quanto sistêmicas, sendo a leishmaniose tegumentar a mais comum delas (SILVA et al., 2012). Em algumas regiões do Brasil a esporotricose é negligenciada e subdiagnosticada, principalmente pelo médico veterinário, tornando o controle e prevenção da doença difícil (POSTER et al., 2019).

A doença tem cura, porém o tratamento desta micose, em geral, está relacionado ao uso prolongado de antifúngicos sistêmicos. O itraconazol, antifúngico da classe dos triazólicos, é o fármaco de escolha para tratamento de felinos com esporotricose, pois apresenta menos efeitos adversos quando comparado aos demais fármacos antifúngicos (SCHUBACH et al., 2004; PEREIRA et al., 2010). Gatos com esporotricose que utilizaram o medicamento apresentaram cura clínica em 71% dos casos. As falhas nos tratamentos foram maiores em animais com lesões na mucosa nasal e no trato respiratório (SOUZA et al., 2018).

Diversos estudos vêm demonstrando a resistência ao itraconazol nesses pacientes (CROTHERS et al., 2009; GREMIÃO et al., 2011), muitos casos são comprovadamente refratários ao antifúngico convencional, assim é crescente o número de casos com falhas terapêuticas. Vários fatores podem comprometer a cura clínica, como escolha do fármaco, posologia (KINNISSON et al., 2015; SIVEN et al., 2017) e susceptibilidade antifúngica (OTTONELLI STOPIGLIA et al., 2014; BORBA-SANTOS et al., 2015; BRILHANTE et al., 2000). Com o aparecimento de resistência, novas alternativas de tratamento estão sendo empregados, inclusive a utilização do itraconazol em associação com outros medicamentos, como iodeto de potássio, iodeto de sódio, anfotericina-B, cetoconazol e até mesmo em associação com remoção cirúrgica (DA ROSA et al., 2017). A falha do tratamento associada à baixa susceptibilidade de *Sporothrix brasiliensis* ao itraconazol tem sido descrita em estudos recentes que demonstraram resistência do fungo frente a diferentes marcas comerciais e compostos (WALLER et al., 2020b), e também a resistência *in vitro* de *Sporothrix brasiliensis* correlacionado com a falha terapêutica *in vivo* (NAKASU et al., 2021).

## **4 Artigos**

### **4.1 Artigo 1**

#### **Métodos de avaliação antimicrobiana de extratos de diferentes variedades de *Olea europaea* L: Revisão de literatura**

Otávia de Almeida Martins, Márcia Kutscher Ripoll, Stefanie Bressan Waller, Luiza da Gama Osório, Angelita Reis Gomes, Renata Osório de Faria e Mário Carlos Araújo Meireles

Aceito para publicação na revista Science And Animal Health

## MÉTODOS DE AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE DIFERENTES VARIEDADES DE *Olea europaea* L.: REVISÃO DE LITERATURA

MARTINS, Otávia de Almeida <sup>1</sup>;  
RIPOLL, Márcia Kutscher <sup>1</sup>;  
WALLER, Stefanie Bressan <sup>1</sup>;  
OSÓRIO, Luiza da Gama <sup>1</sup>;  
GOMES, Angelita Reis <sup>1</sup>;  
FARIA, Renata Osório de <sup>1</sup>;  
MEIRELES, Mário Carlos Araújo <sup>1</sup>;  
MELLO, João Roberto Braga de <sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Micologia Veterinária – MICVET, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas; <sup>2</sup>Médico Veterinário, Professor, Doutor, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

### RESUMO

A oliveira (*Olea europaea* L.) é uma árvore característica da Região Mediterrânea, conhecida mundialmente pelo seu fruto, a azeitona. É um dos cultivos mais antigos, principalmente devido a fácil adaptação às adversidades ambientais. No estado do Rio Grande do Sul, seu cultivo teve início em 1948 e vem apresentando grande destaque. Entre outros compostos produzidos pela oliveira, os fenólicos, especialmente os polifenóis hidroxitirosol e a oleuropeína, demonstraram ação antimicrobiana *in vitro*, porém existem poucos relatos sobre a atividade antifúngica. O objetivo desta revisão foi relatar a atividade antimicrobiana de *Olea europaea* L. e comparar os resultados dos testes realizados com as distintas variedades e extratos. Foram selecionados onze trabalhos publicados entre os anos de 2000 e 2018. Os experimentos avaliados neste estudo permitiram concluir que os diferentes extratos da oliveira, preparados através de uma extração simples, apresentaram uma satisfatória atividade antimicrobiana *in vitro*. A variedade Arbequina e o método de difusão em ágar foram os mais utilizados nos experimentos analisados. Os extratos da oliveira têm demonstrado resultados promissores relacionados a efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes e antimicrobianos. Estudos *in vivo* são necessários para confirmar a atividade terapêutica dos diversos compostos da árvore.

**Palavras-chave:** Extratos vegetais. Oliveira. *In vitro*.

### INTRODUÇÃO

A oliveira (*Olea europaea* L.), pertencente à família *Oleaceae* é uma árvore característica da Região Mediterrânea, é um dos cultivos mais antigos, principalmente devido a fácil adaptação às adversidades ambientais (HOFFMANN, 2001; SCHLEMMER, 2011). A Região Mediterrânea

é responsável atualmente por 98% do total de área cultivada de oliveiras em todo o mundo e fornece a maioria do azeite consumido no mercado internacional (EL; KARAKAYA, 2009).

A importância econômica da oliveira tem origem no seu fruto, a azeitona, que contém substâncias importantes do ponto de vista nutricional, tais como ácidos graxos insaturados, vitaminas e compostos fenólicos. Esses compostos também estão presentes no azeite de oliva (RIACHY et al., 2011). As plantas produzem dois tipos de metabólitos, os primários e os secundários. Os metabólitos primários estão relacionados com o armazenamento de energia e manutenção nutricional da vida da planta, os secundários estão envolvidos com a defesa frente a estresses bióticos ou abióticos, chamativos para insetos polinizadores ou dispersores de sementes ou até mesmo promovendo a simbiose entre planta e micro-organismos. Em relação as vias de síntese e suas semelhanças estruturais, os metabólitos podem ser divididos em três grupos, sendo classificados como compostos terpenóides, fenólicos ou nitrogenados (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A oleuropeína é o composto fenólico mais abundante presente nas folhas da oliveira (*Olea europaea* L.) (AL-AZZAWIE; ALHAMDANI, 2006; AOUIDI et al., 2012), sendo considerado um éster do ácido elenólico e 3,4-dihidroxifenil etanol (TAN et al., 2003) que, após a ingestão, é metabolizado para hidroxitiroso, considerado também um importante antioxidante (ZOIDOU et al., 2014). Alguns trabalhos de pesquisa têm destacado o potencial farmacológico da oleuropeína, demonstrando suas atividades: antimicrobiana (TRIPOLI et al., 2005), antioxidante (VISIOLI et al., 2002), antiviral (MICOL et al., 2005) e anti-inflamatória (VISIOLI et al., 1998). Com isso, surgiu o interesse em estudar os métodos para sua extração bem como a aplicação em produtos nas áreas alimentícia, cosmética e farmacêutica.

O Brasil é um grande importador de óleo de oliva, posicionando-se na lista dos 10 países de maior consumo no mundo (SÁ et al., 2019). No país a cultura da oliveira se instalou inicialmente no sul e sudeste, e em 1948 foi oficialmente introduzida no Rio Grande do Sul, através da criação do órgão especializado da Secretaria da Agricultura (Serviço Oleícola), com a finalidade de superintender e orientar os trabalhos de fomento e pesquisa (CARDOSO; DIAS, 2018). Com o passar dos anos, alguns pioneiros plantaram em Uruguaiana (RS), olivais com mudas oriundas da Argentina com assistência técnica argentina e brasileira. Posterior a este fato, a Secretaria de Agricultura local se interessou pela oliveira e incentivou à implantação de grandes olivais em vários pontos do território gaúcho, destacando-se a Região da Campanha Gaúcha (Caçapava do Sul, Dom Pedrito e Candiota) (TERAMOTO et al., 2010). Já existem

algumas experiências com a produção de oliveiras no Brasil, em microclimas favoráveis a cultura, como é o caso de algumas regiões da Serra da Mantiqueira nos estados de Minas Gerais e São Paulo, com altitudes maiores que 1.000 metros e Região Sul do Brasil, com condições naturais para cultivo, como nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (BERTONCINI et al., 2010).

Considerando-se a importância que as oliveiras e seus produtos representam para o mercado brasileiro, entidades governamentais incentivaram o seu cultivo a pequenos produtores no país, que já apresentavam áreas cultivadas equivalente a 400 ha na Região Sul (TERAMOTO et al., 2010).

No Brasil, as variedades predominantes são a Arbequina, Grappolo, Maria da Fé, entre outras (VILLA; OLIVEIRA, 2012), sendo que algumas são destinadas à produção de azeite de oliva, que é obtido por meio da compressão direta da azeitona, como a Koroneiki, Arbequina, Arbosana e Grappolo, pois conseguem obter um alto rendimento do óleo produzido pelos frutos. Arbequina é uma das mais importantes devido as suas características de vigor vegetativo, precocidade, alto rendimento em azeite e boa resistência ao ataque de pragas e doenças (OLIVEIRA et al., 2003). Cada cultivar da árvore é destinado a uma determinada produção, dependendo de suas características particulares, no rendimento do produto destinado e necessidades para adaptação ao clima de cada região (CAVALHEIRO, 2013).

Poucos são os conhecimentos agronômicos e fitoquímicos dos materiais produzidos no país, como também de seus subprodutos, uma vez que grande parte dos materiais resultantes de poda dos olivais e da extração do azeite são descartados, sem destino produtivo (BERTONCINI et al., 2010). O objetivo desta revisão foi relatar a atividade antimicrobiana de *Olea europaea* L. e comparar os resultados dos testes realizados com as distintas variedades e extratos, para tanto foram selecionados onze trabalhos publicados entre os anos de 2000 e 2018.

## **METODOLOGIA**

Para este estudo, procedeu-se uma revisão da literatura utilizando as seguintes bases de dados: Medline, SciELO, PubMed, LILACS, Science Direct e Google Acadêmico. Foram avaliados artigos publicados entre os anos 2000 e 2018. As buscas foram realizadas utilizando-se as palavras-chave: extratos de vegetais, oliveira e *in vitro*. Foram selecionadas publicações que se enquadraram no tema proposto (artigos originais, artigos de revisão para verificação da conclusão, dissertações, teses e livros, escritos em língua portuguesa e em língua inglesa). Para a avaliação da atividade antimicrobiana foram selecionados onze trabalhos científicos.



## **MÉTODOS DE EXTRAÇÃO**

A escolha do método de extração é considerada uma das etapas mais críticas das pesquisas envolvendo produtos naturais. Os extratos preparados com tamanho de partículas foliares menores e obtidos após filtração com tecido apresentaram maior poder de inibição. O efeito da temperatura não é significativo na obtenção de extratos com potencial de inibição, já o efeito da rotação é significativo (MARTINY et al., 2016).

Os métodos mais utilizados para extração de compostos de uma matriz vegetal são a maceração, a extração assistida por ultrassom e a extração assistida por micro-ondas (SIMÕES et al., 2010). A eficiência do processo de extração depende de diversos parâmetros, tais como: o tipo de amostra, a substância a ser extraída e a sua localização no material vegetal, além do tipo de solvente (XYNOS et al., 2012) e da temperatura da extração (GALANAKIS et al., 2010).

### **Maceração**

A maceração é um dos métodos mais utilizados para a obtenção de compostos fenólicos a partir de fontes vegetais, através do simples contato da droga vegetal com o líquido extrator por um período determinado; pode ser estática, quando o contato entre soluto e solvente é realizado em repouso, ou dinâmica, quando a mistura é mantida sob agitação (FALKENBERG et al., 2010). É indicada para fabricação de extratos sensíveis a degradação térmica, quando se quer manter as características sensoriais da planta e não exaurir a extração dos ativos. Este é considerado um processo simples, uma vez que emprega o aquecimento e/ou agitação, a fim de alcançar a dissolução das substâncias presentes na amostra sólida para o solvente extrator (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010). Jimenez et al. (2011) estudaram a obtenção de extratos a partir folhas secas de oliveira, moídas e pré-escaldadas em água quente, e maceradas em etanol e água, por 24 horas, à temperatura ambiente, obtendo extratos hidroalcoólicos com 29% de oleuropeína.

### **Extração assistida por ultrassom**

A extração assistida por ultrassom utiliza ondas sonoras de alta frequência para favorecer a penetração e a transferência de massa, aumentando a solubilidade e difusividade dos compostos (PANJA, 2018). Xie et al. (2015) constataram que as melhores condições para a extração de oleuropeína foram obtidas utilizando etanol 75%, temperatura de extração igual a 50 °C, 600 W de energia do ultrassom, tempo de extração de três minutos e pressão de

extração igual a 25 kilopascal. Tais condições proporcionaram um rendimento total de oleuropeína de  $7,67 \pm 0,02\%$ .

#### **Extração assistida por micro-ondas**

A extração assistida por micro-ondas utiliza o aquecimento do solvente através da aplicação de radiação eletromagnética gerada pelo aparelho (PANJA, 2018). Taamalli et al. (2012) avaliaram a extração de compostos fenólicos das folhas de oliveira com o auxílio de micro-ondas à temperatura de 80 °C, durante seis minutos, utilizando uma mistura de metanol/água como solvente da extração, o que resultou em um rendimento final de 16,7% para os compostos fenólicos. Em outro estudo conduzido por Japón-Luján et al. (2006), realizou-se a extração da oleuropeína das folhas de oliveira utilizando a técnica de micro-ondas, em uma mistura de etanol/água, obtendo-se assim, um teor igual a 2,3% do composto.

A extração sólido-líquido empregando solventes orgânicos, como etanol, metanol, clorofórmio e acetato de etila, por exemplo, é uma das técnicas mais utilizadas para a obtenção de compostos não voláteis. Várias técnicas podem ser aplicadas, tais como extrações a frio, empregando maceração, percolação ou turbo extração. Há também as extrações a quente que podem ser realizadas em sistemas fechados, como a extração utilizando-se o aparelho de Soxhlet, ou em sistemas abertos, como nos métodos de decocção ou infusão (FALKENBERG et al., 2010).

Sahin et al. (2011), estudaram processos de extração de compostos fenólicos a partir de fontes vegetais, por meio de Soxhlet (aparelho que utiliza o refluxo do solvente em um processo intermitente, o reagente não entra em contato com o solvente), tendo sido avaliados vários tipos de solventes (hexano, água, metanol, etanol e a mistura de metanol/hexano), com um rendimento de oleuropeína de 37,84 mg/g de folha seca utilizando o metanol como solvente.

A extração com fluido supercrítico (TABERA et al., 2004; XYNOS et al., 2012) e a extração com fluido pressurizado (LOZANO-SÁNCHEZ et al., 2014) também foram descritas como métodos potenciais para obter oleuropeína das folhas de oliveira.

A literatura relata extratos aquosos, hidroalcoólicos e alcoólicos em diversas proporções, feitos a partir de folhas verdes ou secas, de casca, de frutos, de sementes e, até mesmo, de botões florais. O uso de solventes hidroalcoólicos, obtidos a partir de diferentes proporções de água e etanol, é eficiente para a extração bruta de taninos e saponinas (FALKENBERG et al., 2010).

## MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Na avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos, diferentes métodos podem ser utilizados, sendo os mais conhecidos: método de difusão em ágar por poço, disco-difusão e métodos de macrodiluição e microdiluição, os quais são realizados em caldo. Os métodos de difusão em ágar ou em caldo são igualmente aceitáveis para medir quantitativamente a atividade *in vitro* de um agente antimicrobiano contra um determinado isolado bacteriano (CLSI, 2017). Para determinar a concentração mínima inibitória (CMI) ou a concentração mínima bactericida (CMB) de extratos ativos de plantas, tem-se utilizado o método de microdiluição em caldo como sendo o mais confiável para avaliar agentes antimicrobianos, por fornecer resultados quantitativos e não ser influenciado pela velocidade de crescimento do micro-organismo (OSTROSKY et al., 2008). Por outro lado, Othman et al. (2011), propuseram que, tanto o uso em base caldo como em base ágar são necessários para obtenção de resultados confiáveis da atividade antimicrobiana de extratos de plantas. Embora geralmente sejam utilizadas as normatizações internacionalmente conhecidas do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) como base para testes de suscetibilidade antimicrobiana, as diretrizes são direcionadas para antimicrobianos com parâmetros já conhecidos. Há poucos estudos comparativos relatando qual é o melhor método a ser utilizado para avaliar a atividade antimicrobiana de extratos vegetais, mesmo no que se refere às metodologias usualmente utilizadas. Além disso, há a necessidade da uniformização dos métodos de extração e testes *in vitro*, para que a pesquisa possa ser mais eficiente e a interpretação dos resultados mais facilitada e confiável (COWAN, 1999). A ausência de padronização das metodologias limita as pesquisas sobre atividade antimicrobiana de extratos vegetais, especialmente em relação à comparação de resultados obtidos por diferentes pesquisadores, que avaliam a mesma amostra com diferentes metodologias. Isso está relacionado a um caráter multifatorial que pode modificar a inibição *in vitro* de crescimento de micro-organismos, como o método de obtenção dos extratos, a espécie de micro-organismo utilizada, a concentração da amostra e do inóculo e o método empregado para a avaliação da atividade antimicrobiana (KING et al., 2008).

### Método de difusão

A aplicação do método de difusão se limita a micro-organismos de crescimento rápido, sendo eles aeróbios ou aeróbios facultativos. A avaliação é comparativa frente a um padrão biológico de referência (controle positivo) e a zona ou o halo de inibição de crescimento é medida

partindo-se da circunferência do disco ou poço, até a margem onde há crescimento de micro-organismos (BARRY; THORNSBERRY, 1991). De acordo com a dimensão do halo os micro-organismos podem ser classificados como: sensíveis, quando o diâmetro da zona de inibição é maior ou não mais do que 3 mm menor que o controle positivo; moderadamente sensíveis, halo maior que 2 mm, mas menor que o controle positivo de mais de 3 mm; e resistentes, diâmetro igual ou menor que 2 mm. Como controle positivo, emprega-se um quimioterápico padrão, e como controle negativo o solvente utilizado para a dissolução dos extratos (KARAMAN et al., 2003; SPRINGFIELD et al., 2003).

As condições de incubação recomendadas são temperatura de 35-37 °C para bactérias durante 24 a 48 horas e para fungos de 25 a 27 °C por 48 a 72 horas (AYRES et al., 2008; MOODY et al., 2004; SPRINGFIELD et al., 2003). As técnicas de aplicação da substância antimicrobiana no método de difusão são por meio de disco, cilindros de aço inoxidável ou vidro e perfuração em ágar (PINTO et al., 2003).

#### **Método de diluição em caldo**

O método de diluição em caldo considera a relação entre a proporção de crescimento do micro-organismo desafiado no meio líquido e a concentração da substância ensaiada. A avaliação é comparada frente a um padrão biológico de referência. Entende-se por proporção a densidade da turbidez provocada pelo crescimento microbiano (PINTO et al., 2003). O método fornece resultados quantitativos e não é influenciado pela velocidade de crescimento dos micro-organismos. Sua desvantagem é a dificuldade na detecção de contaminação no caso de teste de materiais clínicos. Como controle positivo, utiliza-se o caldo com o quimioterápico padrão com a suspensão padronizada do micro-organismo em teste, e como controle negativo o meio de cultura com o solvente usado para dissolução da amostra e a suspensão microbiana. Duas metodologias podem ser empregadas: macro e microdiluição (SAHM; WASHINGTON II, 1991).

#### **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

A pesquisa de novos agentes antimicrobianos se faz necessária devido ao surgimento de micro-organismos resistentes e de infecções oportunistas fatais que necessitam tratamentos mais brandos (PENNA et al., 2001).

Quanto às propriedades antimicrobianas, alguns estudos já foram realizados sobre a ação antibacteriana. Tripoli et al. (2005) revisaram os trabalhos de inúmeros pesquisadores que avaliaram a atividade bactericida *in vitro* dos componentes fenólicos (oleuropeína, tirosol e

hidroxitirosol) da azeitona e do azeite. Dentre eles, pode-se citar a inibição de crescimento da enterotoxina B produzida por *Staphylococcus aureus* (TRANTER et al., 1993); inibição completa do desenvolvimento de *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Bacillus cereus* (AZIZ et al., 1998); eficiência antibacteriana na inibição de *Staphylococcus aureus*, espécies de *Salmonella* e espécies de *Vibrio* com oleuropeína e hidroxitirosol (BISIGNANO et al., 1999); atuações contra vírus, fungos e bactérias que afetam o sistema respiratório e gastrointestinal (BENAVENTE-GARCÍA et al., 2000). Medina et al. (2006) estudaram os vários componentes da azeitona e relataram que a oleuropeína foi o mais eficiente na inibição, destruindo a membrana das bactérias do estudo. Mendes (2012) demonstrou a inibição de *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* quando expostos a fermentação natural de azeitonas.

Na Tabela 1 estão demonstrados os resultados obtidos por diversos experimentos que avaliaram a atividade antimicrobiana de extratos de oliveira.

Tabela 1 - Estudos sobre a atividade antimicrobiana de extratos de oliveira (*Olea europaea* L.).

Micro-organismos testados	Inibição	Método para avaliar a atividade	Variedade das folhas de oliveira	Tipos de extratos	Autor (ano)
<i>Escherichia coli</i>	+	Difusão em ágar	N.I.	Extração sólido-líquido (Aquoso)	MARKIN et al., 2003.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+				
<i>Staphylococcus aureus</i>	+				
<i>Bacillus subtilis</i>	-				
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+				
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	+				
<i>Microsporum canis</i>	+				
<i>Trichophyton rubrum</i>	+				
<i>Candida albicans</i>	+				
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	+	Diluição em caldo	N.I.	Extração sólido-líquido	BATTINELLI et al., 2006.
<i>Microsporum canis</i>	+				
<i>Candida spp.</i>	-				
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	+	Difusão em ágar	N.I.	Extração sólido-líquido (Etanólico)	KORUKLUOGLU et al., 2006.
<i>Saccharomyces uvarum</i>	+				
<i>Metschnikowia fructicola</i>	+				
<i>Kloeckera apiculata</i>	+				
<i>Candida oleophila</i>	+				
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	+				
<i>Bacillus cereus</i>	+	Macro-caldo-diluição	N.I.	Extração sólido-líquido (Aquoso)	PEREIRA et al., 2007.
<i>Bacillus subtilis</i>	+				
<i>Staphylococcus aureus</i>	+				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+				
<i>Escherichia coli</i>	+				
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+				
<i>Cândida albicans</i>	+				
<i>Cryptococcus neoforms</i>	+				
<i>Campylobacter jejuni</i>	+	Diluição em ágar e caldo técnica de microdiluição	N.I.	Azeite Comercial	SUDJANA et al., 2009.
<i>Helicobacter pylori</i>	+				
<i>Staphylococcus aureus</i>	+				
<i>Escherichia coli</i>	+	Difusão em ágar	Arbequina	Extração sólido-líquido	RIBEIRO et al., 2016.
<i>Staphylococcus aureus</i>	+				
<i>Escherichia coli</i>	+	Difusão em ágar	Arbequina	Extração sólido-líquido (Aquoso)	MARTINY et al., 2016.

<i>Escherichia coli</i>	+	Diluição em ágar	N.I.	Azeite Comercial	BELTRAN et al., 2016.
<i>Staphylococcus aureus</i>	+				
<i>Escherichia coli</i>	+	Difusão em ágar	Arbequina	Extração sólido-líquido (Aquoso)	ANTUNES et al., 2017.
<i>Staphylococcus aureus</i>	+		Koroneike Frontoio Arbosana Manzanilha		
<i>Escherichia coli</i>	+	Difusão em ágar	Arbequina	Extração sólido-líquido	MARTINY et al., 2017.
<i>Candida albicans</i>	-	Teste de microdiluição	Arbosana e	Extração sólido-líquido (Etanólico)	TERAMOTO et al., 2017.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-		Koroneike		
<i>Escherichia coli</i>	+				
<i>Enterococcus hirae</i>	-				
<i>Staphylococcus aureus</i>	+				
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-				
<i>Salmonella enteritidis</i>	+				
<i>Salmonella choleraesuis</i>	-				

+: quando houve inibição do micro-organismo;

-: quando não houve inibição do micro-organismo;

N.I.: variedade das folhas não informada.

As diferentes metodologias utilizadas nos onze experimentos selecionados dificultaram a comparação dos resultados. Segundo Fennel et al. (2004), as variações ocorrem devido a fatores como: a técnica utilizada, o micro-organismo e as cepas utilizadas no teste, a origem da planta, a época da coleta, se os extratos foram preparados a partir de plantas frescas ou secas e a quantidade de extrato testada. Assim, não existe método padronizado para expressar os resultados de testes antimicrobianos de produtos naturais, porém pode-se confirmar o seu potencial promissor como antimicrobiano dependendo do extrato, concentração e micro-organismo utilizado.

O método de difusão foi o mais utilizado nos testes, pois fornece resultados qualitativos. É um dos métodos de suscetibilidade mais simples, confiável e mais utilizado. No método de disco-difusão, um disco de papel de filtro impregnado com uma concentração conhecida de um composto antimicrobiano é colocado na placa de ágar. O antimicrobiano se difunde no ágar de acordo com as propriedades de difusão, solubilidade e peso molecular do composto. Juntos, esses fatores resultam em valores de inibição únicos, formando halos de suscetibilidade do antimicrobiano definindo sensibilidade ou resistência microbiana, do ponto de vista clínico (BAUER et al., 1966).

A atividade antimicrobiana de *Olea europaea* L. tem sido extensivamente investigada nas últimas quatro décadas. Esses esforços científicos se concentraram principalmente na atividade antimicrobiana global dos extratos brutos contra uma grande variedade de bactérias e alguns fungos (THIELMAN et al., 2017). Os micro-organismos testados nos estudos foram: *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *Candida* spp., *Candida albicans*, *Candida oleophila*, *Cryptococcus neoforms*, *Enterococcus hirae*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Kloeckera apiculata*, *Metschnikowia fructicola*, *Microsporum canis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella entérica*, *Staphylococcus epidermidis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces uvarum*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Staphylococcus aureus*, *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes*.

De maneira geral, a capacidade antimicrobiana dos compostos fenólicos é bem conhecida. Nas folhas de oliveira, os polifenóis hidroxitirosois e oleuropeína são os principais compostos fenólicos responsáveis pelas propriedades antimicrobianas das mesmas, estes compostos mostraram atividade antimicrobiana *in vitro*, no entanto, ainda há pouca informação sobre a sua aplicabilidade com potencial antifúngico (PEREIRA et al., 2006; PEREIRA et al., 2007;



PUUPPONEN-PIMIÄ, 2001;). Outros componentes como: princípios amargos (olivamarina), flavonoides (rutina, pigmentos flavônicos), óleos essenciais, taninos, colina, derivados terpênicos, proteínas, sais minerais, ácidos orgânicos e vitaminas, certamente contribuem para os efeitos antimicrobianos observados (CAVALHEIRO et al., 2014). Além disso, os extratos podem ser mais benéficos do que os constituintes isolados, um determinado componente individual bioativo pode alterar suas propriedades na presença de outros compostos presentes nos extratos (PEREIRA et al., 2007).

De acordo com Simões et al. (2010), alguns flavonoides são responsáveis por atividades anti-inflamatórias e antimicrobianas. Segundo Cowan (1999), os terpenos são ativos contra bactérias, vírus, fungos e protozoários. Terpenos são citados por apresentarem atividade antimicrobiana contra várias bactérias, tais como: *Helicobacter pylori*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Pseudomonas aeruginosa* e menor atividade contra *Candida albicans*, dependendo do terpeno. Assim estes compostos podem estar envolvidos, isoladamente ou em associação, na atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico das folhas. Mesmo não tendo sido realizada a análise da composição química das folhas, trabalhos mostraram que estas são ricas em compostos fenólicos. O trabalho de Pereira et al. (2007) mostrou que o uso das folhas de oliva como nutracêutico pode diminuir o risco de infecções microbianas, particularmente no trato intestinal e respiratório, principalmente por causa dos compostos fenólicos.

Os resultados dos experimentos selecionados demonstraram que os extratos das folhas da oliveira apresentaram elevada atividade antimicrobiana contra inúmeros agentes patogênicos, os poucos resultados divergentes podem ser explicados pelos diferentes cultivares de azeitona utilizados e pelos diferentes métodos de preparação das amostras (MARKIN et al., 2003; RANALLI et al., 2006).

## **CONCLUSÃO**

Os extratos das folhas da oliveira demonstraram ação antimicrobiana contra bactérias Gram-negativas, Gram-positivas e fungos. Nos experimentos selecionados, na maioria dos casos, os extratos foram produzidos através de uma extração simples (sólido-líquido) de folhas da variedade Arbequina, sendo que o método de difusão em ágar foi o mais empregado para a avaliação da atividade antimicrobiana.

O uso de extratos das folhas da oliveira tem demonstrado resultados promissores e eficazes podendo ser inseridos como terapia inovadora e útil no desenvolvimento de novas estratégias

de tratamento para efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes e antimicrobianos. Estudos *in vivo* são necessários para confirmar a atividade terapêutica dos diversos compostos da árvore.

## **ANTIMICROBIAL EVALUATION METHODS OF EXTRACTS OF DIFFERENT VARIETIES OF *Olea europaea* L.: LITERATURE REVIEW**

### **ABSTRACT**

The olive tree (*Olea europaea* L.) is a characteristic tree of the Mediterranean region, known worldwide for its fruit, the olive. It is one of the oldest crops, mainly due to its easy adaptation to environmental adversities. In the state of Rio Grande do Sul, its cultivation began in 1948 and has been showing great prominence. Among other compounds produced by the olive tree, phenolics, especially the polyphenols hydroxytyrosol and oleuropein, have demonstrated antimicrobial action *in vitro*, but there are few reports of antifungal activity. The objective of this review was to report the antimicrobial activity of *Olea europaea* L. and to compare the results of tests carried out with the different varieties and extracts. Eleven works published between the years 2000 and 2018 were selected. The experiments evaluated in this study allowed us to conclude that the different extracts of the olive tree, prepared through a simple extraction, showed satisfactory antimicrobial activity *in vitro*. The Arbequina variety and the agar diffusion method were the most used in the analyzed experiments. Olive tree extracts have shown promising results related to anti-inflammatory, antioxidant and antimicrobial effects. *In vivo* studies are needed to confirm the therapeutic activity of the various compounds in the tree.

**Keywords:** Vegetable extracts. Olives. *In vitro*.

## **MÉTODOS DE EVALUACIÓN ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS DE DISTINTAS VARIETADES DE *Olea europaea* L.: REVISIÓN DE LA LITERATURA**

### **RESUMEN**

El olivo (*Olea europaea* L.) es un árbol característico de la región Mediterránea, conocido mundialmente por su fruto, la aceituna. Es uno de los cultivos más antiguos, principalmente por su fácil adaptación a las adversidades ambientales. En el departamento de Rio Grande do Sul, su cultivo comenzó en 1948 y viene mostrando gran protagonismo. Entre otros compuestos producidos por el olivo, los fenoles, especialmente los polifenoles hidroxitirosol y oleuropeína, han demostrado acción antimicrobiana *in vitro*, pero hay pocos informes de actividad antifúngica. El objetivo de esta revisión fue reportar la actividad antimicrobiana de *Olea europaea* L. y comparar los resultados de las pruebas realizadas con las diferentes variedades y extractos. Se seleccionaron once trabajos publicados entre 2000 y 2018. Los experimentos evaluados en este estudio permitieron concluir que los diferentes extractos de

olivo, preparados mediante una extracción simple, mostraron actividad antimicrobiana satisfactoria *in vitro*. La variedad Arbequina y el método de difusión en agar fueron los más utilizados en los experimentos analizados. Los extractos de olivo han mostrado resultados prometedores relacionados con efectos antiinflamatorios, antioxidantes y antimicrobianos. Se necesitan estudios *in vivo* para confirmar la actividad terapéutica de los diversos compuestos del árbol.

**Palabras clave:** Extractos vegetales. Olivera. *In vitro*.

## REFERÊNCIAS

AL-AZZAWIE, H. F.; ALHAMDANI, M. S. S. Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. **Life Sciences**, V. 78, p. 1371-1377, 2006.

ANTUNES, B. F.; SILVA, L. A.; ALVES, P. I. C.; et al. Atividade antibacteriana de extratos de folhas de oliveira (*Olea europaea* L.) da região da campanha gaúcha. In: ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO (ENPOS), 19, 2017, Pelotas. **ANAIS**. Pelotas: UFPEL, 2017.

AOUIDI, F.; DUPUY, N.; ARTAUD, J.; et al. Rapid quantitative determination of oleuropeína in olive leaves (*Olea europaea*) using mid-infrared spectroscopy combined with chemometric analyses. **Industrial Crops and Products**, v. 37, n. 1, p. 292-297, 2012.

AYRES, M. C. C.; BRANDÃO, M. S.; VIEIRA-JÚNIOR, G. M.; et al. Atividade antibacteriana de plantas úteis e constituintes químicos da raiz de *Copernicia prunifera*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 1, p. 90-97, 2008.

AZIZ, N. H.; FARAG, S. E.; MOUSA, L. A.; et al. Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. **Microbios**, n. 93, p. 43-54, 1998.

BARRY, A. L.; THORNSBERRY, C. Susceptibility tests: Diffusion Test Procedures. In: BALOWS, A.; HAUSER, W. J.; HERMANN, K. L.; ISENBERG, H. D.; SHAMODY, H. J. **Manual of Clinical Microbiology**. 5. ed. Washington: American Society for Microbiology, 1991. P. 1117-1125.

BATTINELLI, L.; DANIELE, C.; CRISTIANI, M.; et al. *In vitro* antifungal and anti-elastase activity of some aliphatic aldehydes from *Olea europaea* L. fruit. **Phytomedicine**, v. 13, n. 8, p. 558-563, 2006.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M.; SHERRIS, J. C.; et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, n. 45, n. 4, p. 493-496, 1966.

BELTRAN, M. S.; JIMÉNEZ, M.; AMÉZQUITA-LÓPEZ, B. A.; et al. Antibacterial activity of ozonized olive (*Olea europaea* L.) and venadillo (*Swietenia humilis* zucc.) oils against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 6, n. 3, p. 947-949, 2016.

BERTONCINI, E. I.; TERAMOTO, J. R. S.; PANTANO, A. P. **Desafios para produção de azeite no Brasil**, 2010. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2010\\_4/DesafioOliva/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2010_4/DesafioOliva/index.htm)> .

BENAVENTE-GARCÍA, O.; CASTILLO, J.; LORENTE, J.; et al. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. **Food Chemistry**, v. 68, n. 4, p. 457-462, 2000.

BISIGNANO, G.; TOMAINO, A.; LO CASCIO, R.; et al. On the *in vitro* antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 51, p. 971-974, 1999.

CARDOSO, C. S.; DIAS, M. F. P. Cadeia da Olivicultura. **Série Agronegócios do Sul**, p. 1-15, 2018. Disponível em: <<https://wp.ufpel.edu.br/gpeia/files/2018/02/CADEIA-DA-OLIVICULTURA-1.pdf>> .

CAVALHEIRO, C. V. **Extração de compostos fenólicos assistida por ultrassom e determinação de ácidos graxos e minerais em folhas de *Olea europaea* L.** Santa Maria, UFSM, 2013. 92p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, 2013.

CAVALHEIRO, C.V; ROSSO, V. D.; PAULUS, E.; et al. Composição química de folhas de oliveira (*Olea europaea* L.) da região de Caçapava do Sul, RS. **Ciência Rural**, v. 44, n. 10, p. 1874-1879, 2014.

CLSI - CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **M27 - Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts**. 3. ed. Wayne: CLSI, 2017. 46p. Disponível em: <[https://clsi.org/media/1897/m27ed4\\_sample.pdf](https://clsi.org/media/1897/m27ed4_sample.pdf)> .

COWAN, M. M. Plant Products as Antimicrobial Agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

EL, S. N.; KARAKAYA, S. Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health. **Nutrition Reviews**, v. 67, n. 11, p. 632-638, 2009.

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I. S.; SIMÕES, C. M. O. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 7. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2010. 1104p.

FENNEL, C. W.; LINDSEY, K. L.; MCGAW, L. J.; et al. Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: pharmacological screening and toxicology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, n. 2-3, p. 205-217, 2004.

GALANAKIS, C. M.; TORNBERG, E.; GEKAS, V. Recovery and preservation of phenols from olive waste in ethanolic extracts. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 85, n. 8, p. 1148-1155, 2010.

HOFFMANN, F. L. Fatores limitantes à proliferação de microorganismos em alimentos. **Brasil Alimentos**, n. 9, p. 23-30, 2001.

JAPÓN-LUJÁN, R.; LUQUE-RODRÍGUEZ, J. M.; LUQUE DE CASTRO, M. D. Multivariate optimisation of the microwave-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 385, n. 4, p. 753-759, 2006.

JIMENEZ, P.; MASSON, L.; BARRIGA, A.; et al. Oxidative stability of oils containing olive leaf extracts obtained by pressure, supercritical and solvent-extraction. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 113, n. 4, p. 497-505, 2011.

KARAMAN, I.; SAHIN, F.; GÜLLÜCE, M.; et al. Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 85, n. 2-3, p. 231-235, 2003.

KING, T.; DYKES, G.; KRISTIANTI, R. Comparative evaluation methods commonly used to determine antimicrobial susceptibility to plant extracts and phenolic compounds. **Journal of AOAC International**, v. 91, n. 6, p. 1423-1429, 2008.

KORUKLUOGLU, M.; SAHAN, Y.; YIGIT, A.; KARAKAS, R. Antifungal activity of olive leaf (*Olea europaea* L.) extracts from the Trilye Region of Turkey. **Annals of Microbiology**, v. 56, n. 4, p. 359-362, 2006.

LOZANO-SÁNCHEZ, J.; CASTRO-PUYANA, M.; MENDIOLA, J. A.; et al. Recovering bioactive compounds from olive oil filter cake by advanced extraction techniques. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 9, p. 16270-16283, 2014.

LUQUE DE CASTRO, M. D.; PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2383-2389, 2010.

MARKIN, D.; DUEK, L.; BERDICEVSKY, I. *In vitro* antimicrobial activity of olive leaves. **Mycoses**, v. 46, n. 3-4, p. 132-136, 2003.

MARTINY, T.; RIBEIRO, P. B.; ROSA, G. S.; MORAES, C. C. Atividade antimicrobiana de extratos foliares de *Olea europaea* L. In: SALÃO INTERNACIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO (SIEPE), 8, 2016, Uruguaiana. **ANAIS**. Uruguaiana: Unipampa, 2016. V. 8, n. 4.

MARTINY, T. R.; SILVA, B. Z.; RIBEIRO, P. B.; et al. Extratos foliares de *Olea europaea* L.: uma alternativa aos aditivos químicos convencionais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 12, 2017, São Carlos. **ANAIS**. São Carlos, UFSCar, 2017. V. 1, n. 4, p. 1-6.

MEDINA, E.; CASTRO, A.; ROMERO, C.; et al. Comparison of the concentrations of phenolic compounds in olive oils and other plant oils: correlation with antimicrobial activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 4954-4961, 2006.

MENDES, P. A. F. **Caracterização da fração fenólica e atividade biológica de azeitonas de mesa ao natural produzidas na região de Trás-os-Montes**. Bragança: ESAB, 2012. 82p. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar), Escola Superior Agrária de Bragança, Instituto Politécnico de Bragança, 2012.

MICOL, V.; CATURLA, N.; PÉREZ-FONS, L.; et al. The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSV). **Antiviral Research**, v. 66, p. 129-136, 2005.

MOODY, J. O.; ADEBIYI, O. A.; ADENIYI, B. A. Do *Aloe vera* and *Ageratum conyzoides* enhance the anti-microbial activity of traditional medicinal soft soaps (Osedudu). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 92, n. 1, p. 57-60, 2004.

OLIVEIRA, A. F.; PASQUAL, M.; CHALFUN, N. N. J.; et al. Influência do número de nós em estacas semilenhosas de oliveira (*Olea europaea* L.) no enraizamento sob câmara de nebulização. **Ciência Agrotecnológica**, v. 27, n. 2, p. 332-338, 2003.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.

OTHMAN, M.; LOH, H. S.; WIART, C.; et al. Optimal methods for evaluating antimicrobial activities from plant extracts. **Journal of Microbiological Methods**, v. 84, p. 161-166, 2011.

PANJA, P. Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials. **Current Opinion in Food Science**, v. 23, p. 173-182, 2018.

PEREIRA, A. P.; FERREIRA, I. C. F. R.; MARCELINO, F.; et al. Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. **Molecules**, v. 12, p. 1153-1162, 2007.

PEREIRA, J. A.; PEREIRA, A. P. G.; FERREIRA, I. C. F. R.; et al. Table olives from Portugal: phenolic compounds, antioxidant potential and antimicrobial activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 22, p. 8425-8431, 2006.

PENNA, C.; MARINO, S.; VIVOT, E.; et al. Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 77, p. 37-40, 2001.

PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003. 325p.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; NOHYNEK, L.; MEIER, C.; et al. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. **Journal of Applied Microbiology**, v. 90, p. 494-507, 2001.

- RANALLI, A.; CONTENUTO, S.; LUCERA, L.; et al. Factors Affecting the Contents of Iridoid Oleuropein in Olive Leaves (*Olea europaea* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 434-440, 2006.
- RIACHY, M.; CAPOTE-PRIEGO, F.; LEÓN, L.; et al. Hydrophilic antioxidants of virgin olive oil. Part 1: Hydrophilic phenols: A key factor for virgin olive oil quality. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 113, n. 6, p. 678-691, 2011.
- RIBEIRO, P.; ALVES, R. C.; ROSA, G. S.; MORAES, C. C. Avaliação do potencial antimicrobiano do extrato da folha de oliveira para aplicação em biofilmes. In: SALÃO INTERNACIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO (SIEPE), 8, 2016, Uruguaiana. **ANAIS**. Uruguaiana: Unipampa, 2016. V. 8, n. 2.
- SÁ, D. G. C. F.; CAMPOS, R. S.; FARIA-MACHADO, A. F. Aceitação de azeites de oliva da região da Mantiqueira (MG): entendendo consumidor e azeite brasileiros. **Documentos - Embrapa Agroindústria de Alimentos**, n. 138, p. 1-27, 2019.
- SAHIN, S.; BILGIN, M.; DRAMUR, M. U. Investigation of oleuropein content in olive leaf extract obtained by supercritical fluid extraction and soxhlet methods. **Separation Science and Technology**, v. 46, n. 11, p. 1829-1837, 2011.
- SAHM, D. F.; WASHINGTON II, J. A. Antibacterial susceptibility tests: Dilution methods. In: BALOWS, A.; HAUSER, W. J.; HERMANN, K. L.; ISENBERG, H. D.; SHAMODY, H. J. **Manual of Clinical Microbiology**. 5. ed. Washington: American Society for Microbiology, 1991. P. 1105-1116.
- SCHLEMMER, D. **Estudo das propriedades de nanocompósitos amido/montmorilonita utilizando óleos vegetais como plastificantes**. Brasília: UnB, 2011. 191p. Tese (Doutorado em Química), Instituto de Química, Universidade de Brasília, 2011.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 7. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2010. 1104p.
- SUDJANA, A. N.; D'ORAZIO, C.; RYAN, V.; et al. Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 33, n. 5, p. 461-463, 2009.
- SPRINGFIELD, E. P.; AMABEOKU, G.; WEITZ, F.; et al. An assessment of two *Carpobrotus* species extracts as potential antimicrobial agents. **Phytomedicine**, v. 10, n. 5, p. 434-439, 2003.
- TAAMALLI, A.; ARRÁEZ-ROMÁN, D.; BARRAJÓN-CATALÁN, E.; et al. Use of advanced techniques for the extraction of phenolic compounds from Tunisian olive leaves: phenolic composition and cytotoxicity against human breast cancer cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 6, p. 1817-1825, 2012.

- TABERA, J.; GUINDA, Á.; RUIZ-RODRÍGUEZ, A.; et al. Countercurrent supercritical fluid extraction and fractionation of high-added-value compounds from a hexane extract of olive leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 15, p. 4774-4779, 2004.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918p.
- TAN, H-W.; TUCK, K. L.; STUPANS, I.; HAYBALL, P. J. Simultaneous determination of oleuropein and hydroxytyrosol in rat plasma using liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of Chromatography B**, v. 785, n. 1, p. 187-191, 2003.
- TERAMOTO, J. R. S.; BERTONCINI, E. I.; PANTANO, A. P. Histórico da introdução da cultura da oliveira no Brasil. **Infobibos**, 2010. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2010\\_4/HistoricoOliveira/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2010_4/HistoricoOliveira/index.htm)> .
- TERAMOTO, J. R. S.; SACHS, R. C. C.; REHDER, V. L. G.; et al. Atividade antimicrobiana das folhas de duas variedades de oliveira e a contextualização deste coproduto da produção paulista e mundial de azeite de oliva. **Revista Intellectus**, n. 37, v. 1, p. 63-83, 2017.
- THIELMANN, J.; KOHNEN, S.; HAUSER, C. Antimicrobial activity of *Olea europaea* Linné extracts and their applicability as natural food preservative agents. **International Journal of Food Microbiology**, v. 251, p. 48-66, 2017.
- TRANter, H. S.; TASSOU, S. C.; NYCHAS, G. J. The effect of the olive phenolic compound, oleuropein, on growth and enterotoxin B production by *Staphylococcus aureus*. **Journal of Applied Bacteriology**, n. 74, n. 3, p. 253-259, 1993.
- TRIPOLI, E.; GIAMMANCO, M.; TABACCHI, G.; et al. The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. **Nutrition Research Reviews**, v. 18, n. 1, p. 98-112, 2005.
- VILLA, F.; OLIVEIRA, A. F. Origem e expansão da oliveira na América Latina. In: OLIVEIRA, A. F. (Org.). **Oliveira no Brasil: tecnologias de produção**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2012. Cap. 1. p. 21-38.
- VISIOLI, F.; BELLOSTA, S.; GALLI, C. Oleuropein, the bitter principle of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages. **Life Sciences**, v. 62, n. 6, p. 541-546, 1998.
- VISIOLI, F.; POLI, A.; GALLI, C. Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. **Medicinal Research Reviews**, v. 22, n. 1, p. 65-75, 2002.
- XIE, P.; HUANG, L.; ZHANG, C.; et al. Reduced pressure extraction of oleuropein from olive leaves (*Olea europaea* L.) with ultrasound assistance. **Food and Bioproducts Processing**, v. 93, p. 29-38, 2015.
- XYNOS, N.; PAPAEFSTATHIOU, G.; PSYCHIS, M.; et al. Development of a green extraction procedure with super/subcritical fluids to produce extracts enriched in oleuropein from olive leaves. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 67, p. 89-93, 2012.



ZOUDOU, E.; MAGIATIS, P.; MELLIOU, E.; et al. Oleuropein as a bioactive constituent added in milk and yogurt. **Food Chemistry**, n. 158, p. 319-324, 2014.

## 4.2 Artigo 2

**Atividade *in vitro* de extratos das variedades Arbequina e Picual de *Olea europaea* L. frente a *Candida* spp., *Microsporum gypseum* e *Sporothrix brasiliensis*.**

Otávia de Almeida Martins, Márcia Kutscher Ripoll, Stefanie Bressan Waller, Luiza da Gama Osório, Angelita Reis Gomes, Renata Osório de Faria e Mário Carlos Araújo Meireles

Aceito para publicação na revista revista Research, Society and Development

## **Atividade in vitro de extratos das variedades Arbequina e Picual de *Olea europaea* L. frente a *Candida* sp., *Microsporium gypseum* e *Sporothrix brasiliensis***

**In vitro activity of extracts of Arbequina and Picual varieties of *Olea europaea* L. in front *Candida* sp., *Microsporium gypseum* and *Sporothrix brasiliensis***

**Actividad in vitro de extractos de las variedades Arbequina y Picual de *Olea europaea* L. en contra *Candida* sp., *Microsporium gypseum* y *Sporothrix brasiliensis***

### **Otávia de Almeida Martins**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0057-3549>  
Universidade Federal de Pelotas, Brasil  
E-mail: otavia.martins@hotmail.com

### **Márcia Kutscher Ripoll**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8681-6267>  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil  
E-mail: marciaripoll@hotmail.com

### **Stefanie Bressan Waller**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6719-1794>  
Universidade Federal de Pelotas, Brasil  
E-mail: waller.stefanie@yahoo.com.br

### **Luiza da Gama Osório**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4067-7713>  
Universidade Federal de Pelotas, Brasil  
E-mail: luizaosorio@yahoo.com

### **Angelita dos Reis Gomes**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5325-044X>  
Universidade Federal de Pelotas, Brasil  
E-mail: angelitagomes@gmail.com

### **Renata Osório de Faria**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7266-2319>  
Universidade Federal de Pelotas, Brasil  
E-mail: renataosoriovet@gmail.com

### **João Roberto Braga de Mello**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7120-7709>  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil  
E-mail: jmello@gabinete.ufrgs.br

### **Mário Carlos Araújo Meireles**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0654-6181>  
Universidade Federal de Pelotas, Brasil  
E-mail: meireles@ufpel.tche.br

### **Resumo**

A oliveira (*Olea europaea* L.) é uma planta frutífera, nativa das regiões tropicais e temperadas e uma das mais antigas cultivadas. O uso de extratos vegetais de conhecida atividade antimicrobiana podem adquirir significado nos tratamentos terapêuticos. O objetivo do trabalho é avaliar a atividade antifúngica dos resíduos da indústria de Oliveiras (bagaço) na variedade Picual e de partes vegetativas de cultivares de oliveira (*Olea europaea* L.) das variedades Arbequina e Picual, frente à *Candida* spp., *Microsporium gypseum* e *Sporothrix brasiliensis*. A metodologia para os testes in vitro foi referenciada pelo documento M27-A3 preconizado pelo CLSI para as leveduras e M38-A2 para fungos filamentosos, adaptados para uso de fitoterápicos. A atividade antifúngica dos extratos hidroalcoólicos de folhas de *Olea europaea* L. se sobressaíram no resultado final, apresentando ação inibitória nas concentrações de 50 mg/ml, 100 mg/ml e 200 mg/ml, seguido do extrato aquoso de decocção nas mesmas concentrações. Os extratos hidroalcoólicos do bagaço da variedade Picual e das folhas das variedades Picual e Arbequina apresentaram atividade fungistática promissora frente aos isolados de *Microsporium gypseum*, apresentando CIM que variaram de 100 mg/ml a 200 mg/ml. Os resultados demonstram potencial desses extratos no tratamento da dermatofitose, porém mais estudos devem ser realizados frente as demais espécies de dermatófitos para comprovação de sua efetividade, além de testes de citotoxicidade. Os extratos de infusão e hidroalcoólicos das folhas da variedade Picual apresentaram maior ação inibitória frente aos isolados de *Candida* spp. e *Sporothrix brasiliensis* apresentando parâmetros importantes para apontar os produtos como uma alternativa terapêutica.

**Palavras-chave:** Antifúngico; Oliveiras; Fungos leveduriformes; Fungos filamentosos.

### Abstract

The olive tree (*Olea europaea* L.) is a fruit-bearing plant, native to tropical and temperate regions and one of the oldest cultivated. The use of plant extracts with known antimicrobial activity can acquire meaning in therapeutic treatments. The objective of this work is to evaluate the antifungal activity of residues from the olive industry (bagasse) in the Picual variety and of vegetative parts of olive cultivars (*Olea europaea* L.) of the Arbequina and Picual varieties, against *Candida* spp., *Microsporium gypseum* and *Sporothrix brasiliensis*. The methodology for the in vitro tests was referenced by the document M27-A3 recommended by the CLSI for yeasts and M38-A2 for filamentous fungi, adapted for the use of phytotherapies. The antifungal activity of the hydroalcoholic extracts of leaves of *Olea europaea* L. stood out in the final result, presenting inhibitory action at concentrations of 50 mg/ml, 100 mg/ml and 200 mg/ml, followed by the aqueous decoction extract at the same concentrations. The hydroalcoholic extracts of the bagasse of the Picual variety and the leaves of the Picual and Arbequina varieties showed promising fungistatic activity against the isolates of *Microsporium gypseum*, with CIM ranging from 100 mg/ml to 200 mg/ml. The results demonstrate the potential of these extracts in the treatment of dermatophytosis, but more studies should be carried out against other species of dermatophytes to prove their effectiveness, in addition to cytotoxicity tests. The infusion and hydroalcoholic extracts from the leaves of the Picual variety showed greater inhibitory action against *Candida* spp. and *Sporothrix brasiliensis* presenting important parameters to point out the products as a therapeutic alternative.

**Keywords:** Antifungal; Olive trees; Yeast-like fungi; Filamentous fungi.

### Resumen

El olivo (*Olea europaea* L.) es una planta frutal, originaria de las regiones tropicales y templadas y una de las más antiguas cultivadas. El uso de extractos de plantas con conocida actividad antimicrobiana puede adquirir significado en tratamientos terapéuticos. El objetivo de este trabajo es evaluar la actividad antifúngica de residuos de la industria del olivo (bagazo) en la variedad Picual y de partes vegetativas de cultivares de olivo (*Olea europaea* L.) de las variedades Arbequina y Picual, frente a *Candida* spp., *Microsporium gypseum* y *Sporothrix brasiliensis*. La metodología para los ensayos in vitro estuvo referenciada por el documento M27-A3 recomendado por el CLSI para levaduras y M38-A2 para hongos filamentosos, adaptados para el uso de fitoterapéuticos. En el resultado final se destacó la actividad antifúngica de los extractos hidroalcohólicos de hojas de *Olea europaea* L., presentando acción inhibitoria a las concentraciones de 50 mg/ml, 100 mg/ml y 200 mg/ml, seguido del extracto acuoso en decocción a las mismas concentraciones. Los extractos hidroalcohólicos del bagazo de la variedad Picual y de las hojas de las variedades Picual y Arbequina mostraron una prometedora actividad fungistática frente a los aislados de *Microsporium gypseum*, con CIM que oscilaron entre 100 mg/ml y 200 mg/ml. Los resultados demuestran el potencial de estos extractos en el tratamiento de la dermatofitosis, pero se deben realizar más estudios contra otras especies de dermatofitos para comprobar su eficacia, además de pruebas de citotoxicidad. La infusión y los extractos hidroalcohólicos de las hojas de la variedad Picual mostraron mayor acción inhibitoria frente a *Candida* spp. y *Sporothrix brasiliensis* presentando parámetros importantes para señalar los productos como alternativa terapéutica. o resumo em espanhol.

**Palabras clave:** Antifúngico; Olivos; Hongos levadura; Hongos filamentosos.

## 1. Introdução

A oliveira (*Olea europaea* L.) é uma planta frutífera, da família botânica *Oleaceae* (Coutinho et al., 2009) nativa das regiões tropicais e temperadas do mundo, é uma das plantas cultivadas mais antigas, sendo o Mediterrâneo a principal região produtora desta cultura, cerca de 98% (Vogel et al., 2014; Özcan & Matthäus, 2017). Ao longo dos anos, muitas cultivares de azeitonas foram desenvolvidas para se adequar as condições de cultivo, sendo que as quatro principais cultivares para produção de azeite são: Koroneike na Grécia, Frantoio na Itália, Arbequina na Espanha e Mission nos Estados Unidos da América (Kostelenos & Kiritsakis, 2017). No país a cultura da oliveira se instalou inicialmente no sul e sudeste e em 1948 foi oficialmente introduzida no Rio Grande do Sul, através da criação do órgão especializado da Secretaria da Agricultura (serviço oleícola), com a finalidade de superintender e orientar os trabalhos de fomento e pesquisa (Embrapa, 2012). Com o passar dos anos, alguns pioneiros plantaram em Uruguaiana/RS olivais, com mudas oriundas da Argentina com assistência técnica argentina e brasileira. Posterior a este fato, a Secretaria de Agricultura local se interessou pela oliveira e incentivou à implantação de grandes olivais em vários pontos do território gaúcho, destacando-se a Região da Campanha Gaúcha (Caçapava do Sul, Dom Pedrito e Candiota) (Teramoto et al., 2010).

A olivicultura está em constante expansão no Brasil, a expectativa do setor é de que até 2025 a área de cultivo alcance 20.000 hectares. Caracterizado como um dos principais importadores, nosso país adquire mais de R\$ 1 bilhão por ano em azeitonas e azeites, sendo o mercado consumidor brasileiro uma grande oportunidade para os produtores rurais. Segundo

estimativas do Instituto Brasileiro de Olivicultura, no RS a área implantada passou de 5.500 ha em 2020 para 7.000 ha em 2021, correspondendo a cerca de 70% das áreas plantadas no Brasil. Na safra 2021, o estado produziu 1.800 toneladas, atingindo o recorde de 202.000 litros de azeite, produzidos nas 15 indústrias de azeite localizadas no estado (Ibraoliva, 2021). A cadeia produtiva da olivicultura no Rio Grande do Sul está organizada e conta com a Câmara Setorial e o fundo de desenvolvimento e hoje no estado contamos com 160 produtores que cultivam aproximadamente 4.800 hectares, extraem 50 mil litros de azeite, processado em doze indústrias que comercializam 26 diferentes marcas (Ibraoliva, 2020).

No Brasil as condições tropicais, favorecem o crescimento vegetativo da planta, o que faz com que especialmente nas épocas de podas, gere-se muita folha, obtidas por este processo de manejo do olival, com baixo índice de aproveitamento. As folhas dessa planta são consideradas um subproduto gerado em grande quantidade (Guinda et al., 2004). A exploração industrial das folhas pode representar uma opção de valorização do plantio de oliveiras, devido ao aumento da demanda por produtos naturais por diversos segmentos industriais, como alimentício e farmacêutico (Fernández-Bolaños et al., 2006; Guinda, 2006; Roig et al., 2006).

O uso de extratos vegetais e fitoquímicos de conhecida atividade antimicrobiana podem adquirir significado nos tratamentos terapêuticos. Desenvolvem-se inúmeros estudos, em diferentes países, para comprovar-lhes a eficácia (Nunan et al., 1985; Locher et al., 1995; Annapurna et al., 1999; Djipa et al., 2000; Feresin et al., 2001; Khan et al., 2001; Ramesh et al., 2002). Muitas espécies vegetais têm sido usadas, pelas características antimicrobianas, através de compostos sintetizados pelo metabolismo secundário da planta. Estes produtos são reconhecidos por suas substâncias ativas, como é o caso dos compostos fenólicos, que fazem parte dos óleos essenciais e dos taninos (Nascimento et al., 2000).

A literatura relata extratos aquosos, alcoólicos e hidroalcoólicos em diversas proporções, feitos a partir de folhas verdes ou secas, de casca, de frutos, de sementes e, até mesmo, de botões florais. O uso de solventes hidroalcoólicos, obtidos a partir de diferentes proporções de água e etanol é eficiente para a extração bruta de taninos e saponinas (Falkenberg et al., 2002). O interesse dos investigadores por fontes naturais de compostos com propriedades biológicas específicas, aumenta devido à crescente suspeita de efeitos secundários e toxicidade de antioxidantes sintéticos e agentes antimicrobianos (Aytul, 2010), assim, devido às possíveis propriedades benéficas das folhas de oliveira, associado à necessidade de valorizar seu uso, é importante estudar seu real potencial biológico (Benavente-García et al., 2000). Essas folhas já são usadas para fins medicinais, como o combate a febres, além disso, reconhecidamente possuem em sua composição um composto fenólico chamado oleuropeína, garantindo as folhas propriedades antimicrobianas, potencial antioxidante e antimicrobiano, porém o modo de ação do extrato bruto da folha de oliveira sobre patógenos ainda não está claro (Pacetta, 2013; Liu et al., 2017). Estudos já relataram atividade antimicrobiana de *Olea europaea* L. contra bactérias, como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp., entre outras (Sudjana et al., 2009; Rafiei et al., 2012; Ghomari et al., 2019; Bayram et al., 2020).

O uso de plantas medicinais devido a resistência às drogas na terapia antifúngica está assumindo cada vez mais importância, como uma abordagem para melhorar a eficácia de agentes antifúngicos e reduzir os níveis de resistência (Donadu et al., 2021). As infecções fúngicas ou micoses são doenças causadas pelo desenvolvimento e multiplicação de fungos patogênicos primários ou oportunistas em diferentes órgãos (Vandeputte et al., 2012). A maioria dos patógenos primários são fungos filamentosos, capazes de estabelecer uma infecção em indivíduos saudáveis. Enquanto que a maioria dos oportunistas são leveduras e algumas espécies de fungos filamentosos, capazes de estabelecer infecção devido a suscetibilidade do paciente (Carvalho, 2016). O uso de plantas medicinais no combate dessas micoses é uma prática comum visando conhecer o perfil de sensibilidade e resistência de fungos leveduriformes e filamentosos a extratos vegetais de plantas medicinais (Barbosa Júnior et al., 2015).

A *Candida albicans* é um fungo comensal comum que coloniza a cavidade orofaríngea, trato gastrointestinal, trato vaginal e a pele de indivíduos saudáveis. Em 50% da população, *C. albicans* faz parte da flora normal da microbiota (Colombo & Guimarães, 2003). As várias manifestações clínicas das espécies de *Candida* variam de distúrbios mucocutâneos superficiais localizados a doenças invasivas que envolvem múltiplos sistemas orgânicos e são fatais. Diferentes drogas antifúngicas, como por exemplo, polienos (nistatina), imidazol (clotrimazol) e clorexidina (classe clorexidina), são usadas no tratamento de infecções por *Candida* spp. Embora esses medicamentos sejam eficazes contra essa infecção, podem por vezes apresentar efeitos colaterais desfavoráveis dependendo da frequência e tempo de utilização (Talapko et al., 2021).

Os dermatófitos são fungos filamentosos, hialinos, queratinofílicos, capazes de causar patologias em homens e animais (Agrawal et al., 2021). Estudos epidemiológicos mostram que a distribuição de dermatófitos isolados de espécimes clínicos sofreram mudanças, tendo como fatores contribuintes para essas alterações, as condições socioeconômicas e climáticas de cada região (Ebrahimi et al., 2019). Apesar dos tratamentos disponíveis, o surgimento de novos casos e de recorrência dessa infecção se tornou um problema de saúde pública (Nweze & Eke, 2018; Pereira et al., 2020; Rengasamy et al., 2020). Estudos apontam aumento na incidência de casos de dermatofitose crônica e recorrentes sem resposta ao tratamento pelos antifúngicos, como fluconazol e terbinafina (Dogra & Uprety, 2016; Joshi et al., 2020).

A esporotricose é uma micose de implantação causada por espécies do complexo *Sporothrix schenckii* (Vásquez-del-Mercado et al., 2012). No Brasil, 96,9% dos casos são causados por *Sporothrix brasiliensis*, responsável por uma infecção zoonótica transmitida de gatos infectados para humanos por meio de mordidas, arranhões ou contato com exsudato das lesões cutâneas de gatos doentes (Rodrigues et al., 2013; Rossow et al., 2020). A esporotricose tem como tratamento padrão os antifúngicos, sendo que para cães e gatos o itraconazol é recomendado como primeira opção (Gremião et al., 2021). Entretanto, muitos casos são comprovadamente refratários ao antifúngico convencional, assim é crescente o número de casos com falhas terapêuticas. Vários fatores podem comprometer a cura clínica, como escolha do medicamento e doses terapêuticas (Kinnisson et al., 2015). A resistência pode ser oriunda das características do agente etiológico como o dimorfismo e a concentração de melanina na parede celular, fatores que são associados não apenas à virulência, mas também a um aumento na resistência a drogas antifúngicas (Almeida-Paes et al., 2009; Mario et al., 2016; Sanchotene et al., 2017).

É com base na busca por novas substâncias e no crescente surgimento de micro-organismos resistentes aos fármacos, além das questões limitantes relacionadas a terapêutica antifúngica, que justificam a realização do presente estudo o qual busca avaliar a atividade antifúngica dos resíduos da indústria de oliveiras (bagaço) na variedade Picual e de partes vegetativas de cultivares de oliveira (*Olea europaea* L.) das variedades Arbequina e Picual, frente à *Candida* spp., *Microsporium gypseum* e *Sporothrix brasiliensis*.

## 2. Metodologia

A pesquisa foi realizada por ensaio laboratorial e desenvolvida no Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Micologia Veterinária – MicVet, da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), abordando o modo quantitativo (Pereira et al., 2018). A partir de testes de extratos aquosos e hidroalcolico derivados de bagaço e das folhas secas de oliveiras, coletados no município de Pinheiro Machado, estado do Rio Grande do Sul, Brasil, frente à isolados fúngicos de interesse.

### 2.1 Preparação dos extratos vegetais

As folhas de oliveira das variedades Arbequina e Picual e o bagaço dos frutos da variedade Picual utilizadas no experimento foram cedidas de uma propriedade no município de Pinheiro Machado (31°29'59,4" S e 53°30'32,7" W), estado do Rio Grande do Sul, Brasil. O bagaço foi coletado nos meses de janeiro e fevereiro dos anos de 2018 e 2019 e as folhas nos meses de julho e agosto dos anos de 2018, 2019 e 2021, posteriormente as folhas foram colocadas para secagem em estufa à 40°C.

Os extratos aquosos derivados de bagaço de oliveira (variedade Picual) e das folhas secas de oliveiras (variedades Arbequina e Picual), foram divididos em decocção (líquido extrator entra em ebulição em contato com a planta) e infusão (água fervente é adicionado à planta) por dez minutos, posteriormente foram filtrados (papel filtro gramatura 1 - 70mm, Whatman™) para retirada da matéria sólida e, em seguida, armazenados em recipiente de vidro âmbar sob refrigeração até a realização das análises.

Para os extratos hidroalcolico do bagaço de oliveira (variedade Picual) e das folhas secas de oliveira (variedades Arbequina e Picual), foram preparados por meio de uma técnica de extração simples com solvente, aos quais foram utilizadas 20,0 g e adicionados 100 ml de álcool cereal (álcool etílico hidratado com base alguns tipos de cereais como o milho, arroz e trigo). Os extratos foram filtrados e armazenado em vidro âmbar sob refrigeração até a realização das análises.

## 2.2 Isolados Fúngicos

No estudo foram utilizados 15 isolados de *Candida* spp., dentre eles duas cepas padrões (*C. albicans* – ATCC America Type Cultura Collection – 14053 e IOC Instituto Oswaldo Cruz – 3691), sete isolados de *Microsporium gypseum* e 15 isolados de *Sporothrix brasiliensis* estocados na micoteca do Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Micologia Veterinária – Micet, da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), provenientes de casos clínicos de cães e gatos. Todos isolados utilizados foram identificados macro e micromorfologicamente. Os isolados de *Candida* spp. foram analisados no Vitek MS IVD system® (bioMérieux; Marcy l'Etoile, France), e para identificação dos isolados de *S. Brasilienses* foi realizado sequenciamento genético.

O estoque foi recuperado e mantido sob refrigeração entre 4 a 8°C durante seu uso no experimento. Para os testes as culturas foram repicadas em ágar Sabouraud dextrose acrescido de cloranfenicol, incubadas, analisadas para comprovar pureza, viabilidade das colônias e mantidos a temperatura ideal para cada gênero fúngico.

## 2.3 Testes de microdiluição em caldo

O método de diluição em caldo considera a relação entre a proporção de crescimento do microrganismo testado no meio líquido e a concentração da substância ensaiada, fornecendo resultados quantitativos (Pinto et al., 2003). Sendo assim, os testes de suscetibilidade foram realizados segundo as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2020) através do protocolo M27-A3 para fungos leveduriformes e seguindo protocolo M38-A2, para fungos filamentosos, adaptados para uso de fitoterápicos (NCCLS, 2002; Aly et al., 2018; Aree & Jongrungruangchok, 2018).

Antecedendo o teste, como preconiza o CLSI, foram realizados os inóculos a partir dos fungos a serem testados. A solução foi homogeneizada e colocada em espectrofotômetro (UV) visível para realizar a medida de absorbância no comprimento de onda de 530 nm. A avaliação do efeito antifúngico dos extratos do bagaço e das folhas de oliveira foram realizadas pelo método de microdiluição em caldo utilizando microplacas estéreis de 96 poços de fundo chato (8 linhas A-H/1-12 colunas).

Os testes foram realizados em triplicata, onde se estipulou controle positivo na coluna A e controle negativo na coluna H. Nos outros poços (de B a G), foram acrescidos 100µL, no primeiro poço-teste, do produto a ser testado e realizada diluições seriadas. Posteriormente, foram acrescentados 100 µL do inóculo diluído em Sabouraud líquido e solução salina para isolados de dermatófitos, enquanto para *Sporothrix brasiliensis* e isolados/cepas de *Candida* sp. foram diluídos em meio RPMI-1640 acrescido de tampão 3-N-ácido morfolinopropanosulfônico (MOPS) e solução salina, permitindo a avaliação das concentrações de 200 mg/ml, 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml, 12,5 mg/ml e 6,25 mg/ml.

As placas foram incubadas em estufa, de acordo com a temperatura ideal de crescimento de cada fungo, até a realização da leitura da concentração inibitória mínima (CIM), que é avaliada através da determinação de uma pequena quantidade da substância necessária para inibir crescimento fúngico, visualmente. Em seguida foi realizada a leitura da concentração fungicida

mínima (CFM), através da semeadura de 10 µl de cada poço em placas de Petri adicionadas de ágar Sabouraud dextrose acrescido de cloranfenicol, onde considera-se como concentração fungicida mínima as placas onde não houve crescimento fúngico.

### 3. Resultados e Discussão

A atividade antimicrobiana de *Olea europaea* L. tem sido extensivamente investigada nas últimas quatro décadas. Esses esforços científicos se concentraram principalmente na atividade antimicrobiana global dos extratos brutos contra uma grande variedade de bactérias e alguns fungos (Thielman et al., 2017), obtendo resultados promissores como extratos aquosos de folha de oliveira frente à isolados clínicos de bactérias e fungos filamentosos (Markin et al, 2003) e extratos comerciais de folhas de oliveira frente à bactérias e fungos leveduriforme (Sudjana et al, 2009). A fim de recorrer a novas alternativas para tratamentos de doenças causadas por fungos, plantas com ação medicinal estão sendo testadas devido a sua atual utilização a nível popular, seja em infusões, óleos essenciais e extratos alcoólicos. Sabe-se que os principais compostos que atuam combatendo micro-organismos são os compostos fenólicos, contudo, o extrato em seu conjunto, tem se mostrado mais benéfico que estes compostos isoladamente (Pereira et al., 2007).

Os resultados obtidos de viabilidade dos isolados e cepas frente aos extratos do bagaço das oliveiras (dos anos de 2018 e 2019) e das folhas (dos anos de 2018, 2019 e 2021) testados na concentração fungicida mínima estão descritos nas Tabelas 1 e 2. Nenhum dos extratos, nas concentrações testadas, apresentou ação fungicida quando avaliada a concentração fungicida mínima (CFM).

A partir do bagaço de oliveira da variedade Picual, coletados nos anos de 2018 e 2019, foram testados extratos aquosos (infusão e decocção) e extrato hidroalcoólico frente à 15 isolados de *Candida* spp., sete isolados de *Microsporum gypseum* e 15 isolados de *Sporothrix brasiliensis* (Tabela 1).



**Tabela 1:** Concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos do bagaço de *Olea europaea* L. da variedade Picual frente dos fungos causadores de candidose, dermatofitose e esporotricose, nos anos de 2018 e 2019.

Isolados/cepas	Ano de 2018			Ano de 2019		
	Extratos da variedade Picual (mg/ml)			Extratos da variedade Picual (mg/ml)		
	INF	DEC	HA	INF	DEC	HA
<b><i>Candida</i> spp. (n=15)</b>						
ATCC 14053 (1)	> 200	100	> 200	100	100	> 200
IOC 3691 (1)	>200	100	>200	100	100	>200
<i>Candida</i> sp. (1)	>200	>200	>200	200	200	>200
<i>Candida</i> sp. (1)	>200	>200	>200	>200	200	>200
<i>Candida</i> sp. (11)	>200	>200	>200	>200	>200	>200
<b>Dermatófitos (n=7)</b>						
<i>Microsporium gypseum</i> (4)	> 200	> 200	200	> 200	> 200	100
<i>Microsporium gypseum</i> (3)	> 200	> 200	200	> 200	200	100
<b><i>Sporothrix brasiliensis</i> (n=15)</b>						
<i>Sporothrix</i> sp. (1)	>200	>200	>200	200	200	>200
<i>Sporothrix</i> sp. (1)	200	>200	>200	100	100	>200
<i>Sporothrix</i> sp. (13)	>200	>200	>200	>200	>200	>200

Legenda: INF – Infusão; DEC – Decocção; HA – Hidroalcolico. Fonte: Autores (2022)

Dos 15 isolados de *Candida* spp., as cepas padrão, pertencentes a espécie *albicans*, uma *American Type Culture Collection* 14053 (ATCC) e a outra do Instituto Oswaldo Cruz 3691 (IOC), apresentaram sensibilidade, sendo uma delas suscetível na concentração de 100mg/ml no extrato de decocção no ano de 2018 e a 100mg/ml nos extratos de infusão e decocção do bagaço coletado no ano de 2019. Em 2018 mais nenhum dos isolados apresentaram inibição frente aos extratos testados. Um isolado clínico de *Candida* spp. foi suscetível na concentração de 200 mg/ml no extrato de decocção e um apresentou inibição nos extratos de infusão e decocção na concentração de 200 mg/ml, no ano de 2019. Os demais isolados não foram inibidos nos testes realizados.

Todos os sete isolados de *M. gypseum* foram sensíveis aos extratos hidroalcoólicos do bagaço da variedade Picual, colhido nos anos de 2018 e 2019, sendo inibidos nas concentrações de 200 mg/ml e 100 mg/ml, respectivamente. No ano de 2019, três isolados foram também inibidos na concentração de 200 mg/ml do extrato de decocção. Nos demais extratos não foram verificadas nenhuma ação antifúngica nas concentrações testadas.

Dos 15 isolados de *S. brasiliensis*, um mesmo isolado foi inibido pelo extrato de infusão nas concentrações de 200 mg/ml e 100 mg/ml, do material colhido nos anos de 2018 e 2019, respectivamente, e pelo extrato de decocção, do ano de 2019, também na concentração de 100 mg/ml. Outro isolado apresentou sensibilidade para a concentração de 200 mg/ml nos extratos de infusão e decocção no ano de 2019. Os 13 isolados restantes não apresentaram sensibilidade a nenhum dos extratos testados.

Os testes feitos a partir do bagaço da Oliveira, tiveram baixa ação inibitória frente à maioria dos isolados, porém o extrato hidroalcoólico teve ação inibitória destacada frente ao *M. gypseum*, quando comparado aos demais extratos. Segundo Menz & Vriesekoop (2010) os azeites de oliva apresentam concentração muito menor de compostos fenólicos que o bagaço de azeitona, mesmo considerando o uso dos tratamentos aplicados. Em relação ao bagaço bruto, essa concentração pode ser de 100 vezes menor, a quantidade e o tipo de fenólicos nas azeitonas são influenciados por vários fatores, como a maturidade, a cultivar e o clima e ainda no azeite, pelas condições de processamento, o que irá gerar bagaços com conteúdos variados e redução dos compostos fenólicos configura uma queda na atividade antimicrobiana.

Segundo Korukluoglu et al. (2006) a alta temperatura para obtenção dos extratos aquosos do bagaço interferiria na fração apolar desses compostos, evaporando e por fim não apresentando a atividade esperada. Esse mesmo autor afirma que a obtenção a partir de diversas extrações com outros solventes como álcool, acetona e acetato de etila demonstraram atividade inibitória e antifúngica. Assim, pressupõe-se que, entre outros fatores, os extratos de bagaço de *O. europaea* testados não apresentaram atividade antifúngica por já terem passado por diversos processos de extração, obtendo assim menor teor de compostos bioativos, devido a esses processamentos realizados no produto inicial e também a baixa concentração utilizada nos testes (Nunes et al., 2018).

A tabela 2, demonstra os resultados de sensibilidade *in vitro* dos isolados de *Candida* spp., *Microsporium gypseum* e *Sporothrix brasiliensis* frente aos extratos de infusão, decocção e hidroalcoólico das folhas de oliveira das variedades Arbequina colhidas nos anos de 2018 e 2019 e Arbequina e Picual do ano de 2021.

**Tabela 2:** Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos folha de *Olea europaea* L. das variedades Arbequina e Picual, frente a isolados/cepas de fungos causadores de candidose, dermatofitose e esporotricose, nos anos de 2018, 2019 e 2021.

Isolados/cepas	Ano 2018			Ano 2019			Ano 2021					
	Extratos da variedade			Extratos da variedade			Extratos da variedade			Extratos da variedade		
	Arbequina (mg/ml)			Arbequina (mg/ml)			Arbequina (mg/ml)			Picual (mg/ml)		
	INF	DEC	HA	INF	DEC	HA	INF	DEC	HA	INF	DEC	HA
<b><i>Candida</i> spp. (n=15)</b>												
ATCC 14053 (1)	> 200	200	200	> 200	200	200	> 200	> 200	> 200	> 200	100	50
IOC 3691 (1)	> 200	200	200	200	200	200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
<i>Candida</i> sp. (3)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	100	50
<i>Candida</i> sp. (3)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	200	200
<i>Candida</i> sp. (3)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	200
<i>Candida</i> sp. (1)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	200	> 200
<i>Candida</i> sp. (1)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	200	100
<i>Candida</i> sp. (2)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
<b>Dermatófitos (n=7)</b>												
<i>M. gypseum</i> (2)	> 200	> 200	200	> 200	> 200	100	> 200	> 200	200	> 200	> 200	100
<i>M. gypseum</i> (1)	> 200	> 200	200	> 200	> 200	100	> 200	> 200	200	> 200	> 200	200
<i>M. gypseum</i> (1)	> 200	> 200	200	> 200	> 200	100	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
<i>M. gypseum</i> (1)	> 200	> 200	200	200	200	100	> 200	> 200	200	> 200	> 200	200
<i>M. gypseum</i> (1)	> 200	> 200	200	200	200	100	> 200	> 200	200	> 200	> 200	100
<i>M. gypseum</i> (1)	> 200	> 200	200	200	200	100	> 200	> 200	200	> 200	> 200	> 200

***Sporothrix brasiliensis*****(n=15)**

<i>Sporothrix</i> sp. (4)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
<i>Sporothrix</i> sp. (1)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	200
<i>Sporothrix</i> sp. (1)	> 200	> 200	> 200	> 200	200	200	> 200	> 200	> 200	> 200	200	100
<i>Sporothrix</i> sp. (1)	> 200	> 200	> 200	> 200	200	200	100	> 200	> 200	> 200	50	200
<i>Sporothrix</i> sp. (1)	> 200	200	> 200	> 200	200	> 200	> 200	200	200	> 200	100	200
<i>Sporothrix</i> sp. (2)	> 200	> 200	200	> 200	200	200	> 200	> 200	> 200	> 200	200	200
<i>Sporothrix</i> sp. (1)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	200	200
<i>Sporothrix</i> sp. (1)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	200	200	200	> 200	> 200	200	200
<i>Sporothrix</i> sp. (3)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	200

---

Legenda: INF – Infusão; DEC – Decocção; HA – Hidroalcoólico. Fonte: Autores (2022)

Nos anos de 2018 e 2019 foram testados extratos aquosos (infusão e decocção) e extrato hidroalcoólico das folhas de oliveira da variedade Arbequina e 2021 os mesmos extratos das folhas de oliveira das variedades Arbequina e Picual, frente aos 15 isolados de *Candida* spp., 7 isolados de *Microsporium gypseum* e 15 isolados de *Sporothrix brasiliensis*.

Dos 15 isolados do gênero *Candida* testados frente aos extratos de folhas de oliveira da variedade Arbequina, somente as cepas padrão de *Candida albicans* apresentaram sensibilidade, foram inibidas na concentração de 200mg/ml no extrato de decocção e no extrato hidroalcoólico do material colhido em 2018. Em 2019, a cepa ATCC apresentou sensibilidade na concentração de 200 mg/ml nos extratos de decocção e hidroalcoólico, já a IOC nos extratos de infusão, decocção e hidroalcoólico na mesma concentração. No ano de 2021 não houve nenhuma ação inibitória dos extratos sobre os isolados. Durante os três anos testados, nenhum dos extratos das folhas da variedade Arbequina apresentou atividade antifúngica frente a isolados provenientes de casos clínicos de *Candida* spp.

O extrato aquoso de decocção das folhas da variedade Picual inibiu 9 (60%) dos 15 isolados de *Candida* spp. (dentre eles a cepa ATCC) em concentrações que variaram de 100 mg/ml a 200 mg/ml. O extrato hidroalcoólico apresentou ação antifúngica em 11 (73,3%) dos 15 isolados da levedura, em concentrações que variaram de 50 mg/ml a 200 mg/ml. Nenhum dos isolados foi sensível ao extrato de infusão das folhas dessa variedade. Estudos confirmam a prerrogativa de que os compostos fenólicos presumivelmente são os que possuem melhor atividade frente à fungos do gênero *Candida* (Batinelli et al., 2006). Markin et al. (2003) relatou que extratos de folha de oliveira com etanol, acetato de etila e acetona inibiram espécies de *C. albicans* em 24h, enquanto o extrato aquoso não exibiu efeitos inibitórios. Korukluoglu e colaboradores (2006), obtiveram resultado positivo com extrato das folhas de *Olea europaea* L. frente à fungos leveduriformes, utilizando a técnica de difusão em disco. Devido à grande variação de compostos majoritários em diferentes extratos, se poderia explicar a divergência dos resultados obtidos em outros estudos (Korukluoglu et al., 2006; Mello & Pinheiro, 2012).

Os isolados de dermatófito *M. gypseum* foram 100% sensíveis ao extrato hidroalcoólico das folhas de oliveira da variedade Arbequina colhidas nos anos de 2018 e 2019, em concentrações que variaram de 100 mg/ml a 200mg/ml, no ano de 2021 apenas um isolado não foi sensível a esse extrato. Os extratos aquosos de infusão e decocção das folhas colhidas no ano de 2019 inibiram apenas três isolados na concentração de 200 mg/ml, o que não ocorreu nos outros anos. Quanto a variedade Picual somente o extrato hidroalcoólico apresentou ação sobre o *M. gypseum*, inibindo cinco (71,4%) dos sete isolados, em concentrações que variaram de 100 a 200 mg/ml.

O extrato hidroalcoólico de folhas da variedade Arbequina colhidas no ano de 2019 inibiu oito (53,3%) dos 15 isolados de *Sporothrix brasiliensis*, situação que não se repetiu nos anos de 2021 e 2018 e, onde respectivamente, somente um e dois isolados foram sensíveis ao extrato. Também no ano de 2019, a ação desse mesmo extrato frente ao *Microsporium gypseum*, inibiu todos os isolados na concentração de 100 mg/ml, enquanto nos outros anos foi necessário o dobro da concentração para obter o mesmo resultado. Em nosso estudo observam-se variações entre extratos e os anos de colheita frente aos mesmos isolados, isso justifica pela qualidade e saúde dos cultivares que foram coletados em anos diferentes. A quantidade e qualidade de compostos bioativos, como a oleuropeína, pode variar por diversos fatores, como variedade do cultivar selecionado, estágio de maturidade da planta e folha, estado fitossanitário, fertilização, período de coleta, índices pluviométricos e condições climáticas (Ranalli et al., 2006; Petridis et al. 2012; Talhaoui et al., 2015). Fennel et al. (2004) cita que as variações referentes à determinação da CIM de extratos de plantas podem ser atribuídas a vários fatores, dentre eles podemos citar a técnica aplicada, o micro-organismo e a cepa utilizada no teste, à origem da planta, a época da coleta, se os extratos foram preparados a partir de plantas frescas ou secas e a quantidade de extrato testada. Assim, não existe método padronizado para expressar os resultados de testes antimicrobianos de produtos naturais. Um aspecto bastante relevante na determinação da CIM de extratos vegetais é a preocupação em relação aos aspectos toxicológicos, microbiológicos e legais pertinentes aos compostos naturais ou suas combinações (Pinto et al., 2003).

Os extratos das folhas da variedade Picual foram os que melhor apresentaram resultados frente ao *Sporothrix brasiliensis*, o extrato hidroalcolico inibiu 11 (73,3%) dos 15 isolados, em concentrações que variaram de 100 mg/ml a 200mg/ml, enquanto o extrato aquoso de decocção inibiu sete (46,6%) dos isolados, com concentrações de 50 mg/ml a 200mg/ml.

Os extratos hidroalcolicos das folhas das variedades Arbequina e Picual foram os que apresentaram maior atividade antifúngica frente aos três gêneros fúngicos testados quando em comparação aos extratos aquosos (infusão e decocção), segundo Korukluoglu e colaboradores (2006), que também não obtiveram bons resultados com esses extratos de *Olea europaea* L. frente a leveduras, isso pode ser explicado pelo fato que compostos fenólicos, são fracamente dissolvidos em água devido a sua fração apolar. A redução da capacidade de inibição, apresentada pelos extratos aquosos, pode ser atribuída à volatilização dos constituintes químicos dos extratos e/ou à instabilidade dos mesmos, na presença de luz, calor, ar e umidade. De acordo com Silva (2006), a discrepância entre os resultados obtidos com o uso de extratos vegetais no controle de fitopatógenos justifica-se pela quantidade e composição química variável dos extratos. Leme et al. (2007) verificaram que a forma de esterilização e o tempo de armazenamento dos extratos interfeririam na atividade dos mesmos em relação ao desenvolvimento dos isolados. Isso explica, em parte, o por que ocorre diferença entre os resultados obtidos quando comparados com resultados de pesquisas realizadas em diferentes locais com a mesma metodologia e a mesma espécie de planta.

Apesar do extrato de infusão ser usualmente a forma mais comumente utilizada, os resultados obtidos demonstram que a decocção apresentou mais compostos fenólicos para além de um maior rendimento de extração comparativamente com a infusão o que permite obter uma maior quantidade de compostos bioativos resultante de uma menor quantidade de planta (Caleja, et al. 2017).

Eloff (1998) utilizou a técnica de diluição em microplacas para verificar a atividade antimicrobiana em extratos vegetais e observou inconvenientes na técnica, tais como células de alguns microrganismos que se aderiam à base do poço, enquanto as de outros permaneciam em suspensão. Ainda, compostos presentes em alguns extratos precipitavam, e a coloração verde da clorofila em concentração muito alta interferia na análise. Fatores esses que podem explicar a grande variabilidade de resultados entre isolados de um mesmo gênero fúngico e extratos encontrados em nosso trabalho. Todavia, o mesmo autor salienta que método de microplacas é barato, tem reprodutibilidade, é trinta vezes mais sensível que outros métodos usados na literatura, requerem pequena quantidade de amostra, e podem ser utilizados para um grande número de amostras deixando um registro permanente.

O trabalho de Pereira et al (2007) mostrou que o uso das folhas de oliveira como nutracêutico pode diminuir o risco de infecções microbianas, particularmente no trato intestinal e respiratório principalmente por causa dos compostos fenólicos. As folhas de oliveira contêm diferentes grupos de componentes tais como: iridóides, polifenóis, flavonas e hidratos de carbono (Le Tutour & Guedon, 1992).

De maneira geral, a capacidade antimicrobiana dos compostos fenólicos é bem conhecida. Nas folhas de oliveira, os polifenóis hidroxitirosol e oleuropeína são os principais compostos fenólicos responsáveis pelas propriedades antimicrobianas (Puupponen-Pimiä et al., 2001; Pereira et al., 2006; Pereira et al., 2007). De acordo com Pereira et al. (2007), a atividade antimicrobiana do extrato aquoso das folhas da oliveira frente as bactérias *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*, demonstraram que o extrato possui uma forte atividade inibitória em relação a *E. coli* e *S. aureus* em comparação com os restantes dos micro-organismos patogênicos. Diversos extratos de oliveira já foram testados frente a bactérias e fungos, obtendo resultados promissores como extratos aquosos de folha de oliveira frente isolados clínicos de bactérias e fungos filamentosos (Markin et al, 2003) e extratos comerciais de folhas de oliveira frente à bactérias e fungos leveduriformes (Sudjana et al, 2009). É importante salientar que, de acordo com o tipo de extrato, as concentrações dos seus constituintes podem variar. Isso justificaria que alguns autores verifiquem atividade antimicrobiana do produto e outros não (Böhmer, 2018).

A atividade antifúngica do extrato hidroalcoólico se sobressaiu no resultado final de todo experimento, apresentando ação inibitória nas concentrações de 50 mg/ml, 100 mg/ml e 200 mg/ml, seguido do extrato aquoso de decocção nas mesmas concentrações e por último o extrato aquoso por infusão nas concentrações de 100 mg/ml e 200 mg/ml. Maria do Socorro et al. (2010) afirma que cada método de análise apresenta particularidades, devido aos diversos tipos de radicais e aos diferentes sítios de ação, assim dificilmente haverá um único teste *in vitro* representativo da verdadeira atividade antioxidante de um composto. O tipo e a polaridade do solvente podem afetar a transferência de elétrons e de átomos de hidrogênio, que são aspectos chaves na medida da atividade antioxidante, além de que a presença de outros compostos nas soluções testadas também pode afetar os resultados. Assim estes compostos podem estar envolvidos, isoladamente ou em associação, na atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico das folhas. Os extratos naturais ricos em compostos fenólicos surgem como alternativas aos óleos essenciais, muito utilizados medicinalmente, mas que, por vezes, têm alguma toxicidade associada (Zapata & Smagghe, 2010; Assis et al., 2011).

#### 4. Considerações Finais

A atividade antifúngica dos extratos hidroalcoólicos de folhas de *Olea europaea* L. se sobressaíram no resultado final de todo experimento, apresentando ação inibitória nas concentrações de 50 mg/ml, 100 mg/ml e 200 mg/ml, seguido do extrato aquoso de decocção nas mesmas concentrações.

Os extratos hidroalcoólicos do bagaço da variedade Picual e das folhas das variedades Picual e Arbequina apresentaram atividade fungistática promissora frente aos isolados de *Microsporium gypseum*, apresentando CIM que variaram de 100 mg/ml a 200 mg/ml. Os extratos de infusão e hidroalcoólicos das folhas da variedade Picual apresentaram maior ação inibitória especialmente frente aos isolados de *Candida* spp. e *Sporothrix brasiliensis* apresentando parâmetros importantes para apontar os produtos como uma alternativa terapêutica após testes de ajuste de concentração e verificação da citotoxicidade, para posterior utilização em modelos *in vivo*, para comprovação de sua efetividade, além de testes de citotoxicidade para avaliar seu uso seguro frente a casos clínicos dessas micoses.

#### Agradecimentos

Agradecimentos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro através da concessão de Bolsa de *Produtividade em Pesquisa* (Processo: 308678/2017-6). Também à Universidade Federal de Pelotas (UFPel) e ao laboratório de Micologia da Faculdade de Veterinária (MicVet - Favet), que dispôs de recursos e espaço físico para realização do trabalho. Assim como à Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) pela participação de pós-graduandos no desenvolvimento do projeto.

#### Referências

- Agrawal, S., Nandeibam, J., & Devi, I. (2021). Danger of exposure to keratinophilic fungi and other dermatophytes in recreational place in the northeast region of India. *Aerobiologia*, 37(4), 755-766.
- Almeida-Paes, R., Frases, S., Monteiro, P. C. F., Gutierrez-Galhardo, M. C., & Zancopé-Oliveira, M. Z. (2009). Growth conditions influence melanization of Brazilian clinical *Sporothrix schenckii* isolates. *Microbes and Infection*, 11(5), 554-562.
- Aly, F. M., Othman, A., & Haridy, M. A. M. (2018). Protective Effects of Fullerene C60 Nanoparticles and Virgin Olive Oil against Genotoxicity Induced by Cyclophosphamide in Rats. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018.
- Annapurna, J., Bhalerao, U. T., & Iyengar, D. S. (1999). Antimicrobial activity of *Saraca asoca* leaves. *Fitoterapia (Milano)*, 70(1), 80-82.
- Aree, T., & Jongrungruangchok, S. (2018). Structure–antioxidant activity relationship of  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes with olive tyrosol, hydroxytyrosol and oleuropein: Deep insights from X-ray analysis, DFT calculation and DPPH assay. *Carbohydrate Polymers*, 199, 661-669.
- Assis, C., Gondim, M., Siqueira, H., & Câmara, C. (2011). Toxicity of essential oils from plants towards *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) and *Suidasia pontifica* Oudemans (Acari: Astigmata). *Journal of Stored Products Research*, 47(4), 311-315.

- Aytul, K. K. (2010). *Atividades antimicrobianas e antioxidantes do extrato de folha de oliveira e suas aplicações alimentícias*. 102f. (Dissertação Mestrado em Biotecnologia) - Escola de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências do Instituto de Tecnologia de Izmir, Turquia.
- Barbosa Júnior, A. M., Mélo, D. M. D., Almeida, F. D., & Trindade, R. (2015). Estudo comparativo da susceptibilidade de isolados clínicos de *Cryptococcus neoformans* (Sanfelice, 1895) frente a alguns antifúngicos de uso hospitalar e extratos vegetais obtidos de plantas medicinais da região semiárida sergipana. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 17(1), 120-132.
- Battinelli, L., Daniele, C., Cristiani, M., Bisignano, G., Saija, A., & Mazzanti, G. (2006). In vitro antifungal and anti-elastase activity of some aliphatic aldehydes from *Olea europaea* L. fruit. *Phytomedicine*, 13(8), 558-563.
- Bayram, M., Topuz, S., & Kaya, C. (2020). Antioxidant, antimicrobial activity of olive leaf extract and oleuropein, their possibilities usage in foods. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 8(2), 337-347.
- Benavente-García, O., Castillo, L., Lorente, J., Ortuño, A., & Del Rio, J. A. (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry*, 68(4), 457-462.
- Böhmer, B. W. (2018). *Potencial antimicrobiano e antitumoral de compostos fenólicos extraídos do bagaço oriundo da obtenção de azeite de oliva (Olea europea L.)*. 77p. (Dissertação Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- Caleja, C., Barros, L., Oliveira, M. B. P. P., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. F. R. (2017). Caracterização do perfil fenólico de extratos aquosos de *Matricaria recutita* L. obtidos por decoção. *Revista de Ciências Agrárias*, 40(spe), 136-139.
- Carvalho, I. T. (2016) *Microbiologia básica*. Recife: EDUFPE, 41-47.
- CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. (2020). Publication M100-S23 Suggested Grouping of US-FDA Approved Antimicrobial Agents That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting on Non fastidious Organisms by Clinical Laboratories. Disponível em: URL: <https://clsi.org>
- Colombo, A. L., & Guimarães, T. (2003). Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 36, 599-607.
- Coutinho, E. F., Ribeiro, F. C., & Cappellaro, T. H. (Ed.).(2009). Cultivo de Oliveira (*Olea europaea* L.) / Enilton Fick Coutinho, Fabrício Carlotto Ribeiro & Thaís Helena Cappellaro — Pelotas: Embrapa Clima Temperado. *Sistema de Produção*, 16(1), 125.
- Djija, C. D., Delmée, M., & Quetin-Leclercq, J. (2000). Antimicrobial activity of bark extracts of *Syzygium jambos* (L.) Alston (*Myrtaceae*). *Journal of Ethnopharmacology*, Limerick, 71(1-2), 307-313.
- Dogra, S., & Uprety, S. (2016). The menace of chronic and recurrent dermatophytosis in India: is the problem deeper than we perceive: *Indian Dermatology Online Journal*, 7(2), 73.
- Donadu, M. G., Peralta-Ruiz, Y., Usai, D., Maggio, F., Molina-Hernandez, J. B., Rizzo, D., & Chaves-Lopez, C. (2021). Óleo essencial colombiano de *Ruta graveolens* contra cepas de *Candida* resistentes a antifúngicos nosocomiais. *Revista dos Fungos*, 7(5), 383.
- Ebrahimi, M., Zarrinfar, H., Naseri, A., Najafzadeh, M. J., Fata, A., Parian, M., Khorsand, I., & Babič, M. N. (2019). Epidemiology of dermatophytosis in northeastern Iran; A subtropical region. *Current Medical Mycology*, 5(2), 16.
- Eloff, J. N. (1998). A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Médica*, 64(08), 711-713.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. (2012). *Embrapa discute a Olivicultura*. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br/imprensa/noticias/2012/24102012.php>.
- Falkenberg, M. B., Santos, R. I., & Simões, C. M. (2002). Introdução à análise fitoquímica. In: Simões, C. M. O (org.). *Farmacognosia - da planta ao medicamento*. 4.ed. Porto Alegre/ Florianópolis: UFRGS/UFSC, cap. 4, 63-72.
- Fennell, C. W., Lindsey, K. L., McGaw, L. J., Sparg, S. G., Stafford, G. I. Elgorashi, E. E., & Van Staden, J. (2004). Review: assessing African medicinal plants for efficacy and safety: Pharmacological screening and toxicology. *Journal of Ethnopharmacology*, 94(2), 205-217.
- Feresin, G. E., Tapia, A., Lopez, S. N., & Zacchino, S. A. (2001). Antimicrobial activity of plants used in traditional medicine of San Juan province, Argentine. *Journal of Ethnopharmacology*, Limerick, 78(1), 103-107.
- Fernández-Bolaños, J., Rodríguez, G., Rodríguez, R., Guillén, R., & Jiménez, A. (2006). Uso potencial de subprodutos de azeitona, Extração de compostos orgânicos interessantes de resíduos de azeite. *Grasas y Aceites*, 57(1), 95-106.
- Ghomari, O., Sounni, F., Massaoudi, Y., Ghanam, J., Drissi Kaitouni, L. B., Merzouki, M., & Benlemlih, M. (2019). Perfil fenólico (HPLC-UV) de folhas de oliveira de acordo com o procedimento de extração e avaliação da atividade antibacteriana. *Relatórios de Biotecnologia*, 23, e00347.
- Gremião, I. D. F., Martins da Silva da Rocha, E., Montenegro, H., Carneiro, A. J. B., Xavier, M. O., de Farias, M. R., & Lopes-Bezerra, L. M. (2021). Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52(1), 107-124.
- Guinda, A. (2006). Aproveitamento de resíduo sólido da olivicultura. *Grasas Y Aceites*, 57(1), 107-115.
- Guinda, A., Pérez-Camino, M. C., & Lanzón, A. (2004). Supplementation of oil with oleonic acid from the olive leaf (*Olea europaea*). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106(1), 22-26.
- IBRAOLIVA - Instituto Brasileiro de Olivicultura (2020). *Abertura oficial da colheita da oliva*. Disponível em: <https://www.ibraoliva.com.br>.
- IBRAOLIVA- Instituto Brasileiro de Olivicultura (2021). *Safra 2021 de oliveiras traz boas expectativas aos produtores*. Disponível em: <https://www.ibraoliva.com.br/noticias/detalhe/107/safra-2021-de-oliveiras-traz-boas-expectativas-aos-produtores>.



- Joshi, S., Shrestha, S., Timothy, U., Jha, A. K., & Thapa, D. P. (2020). Health seeking behavior and cost of care of chronic dermatophytosis: A hospital-based cross-sectional study. *Nepal Medical College Journal*, 22(3), 181-188.
- Khan, M. R., Kihara, M., & Omoloso, A. D. (2001). Antimicrobial activity of *Symplocos cochinchinensis*. *Fitoterapia (Milano)*, 72(7), 825-828.
- Kinnison, T., Guile, D., & May, S. A. (2015). Errors in veterinary practice: preliminary lessons for building better veterinary teams. *Veterinary Record*, 177(19), 492-492.
- Korukluoglu, M., Sahan, Y., Yigit, A., & Karakas, R. (2006). Antifungal activity of olive leaf (*Olea Europaea* L.) extracts from the Trilye region of Turkey. *Annals of Microbiology*, 56(4), 359-362.
- Kostelenos, G., & Kiritsakis, A. (2017). História e evolução da oliveira. *Azeitonas e azeite como alimentos funcionais: bioatividade, química e processamento*, 1-12.
- Le Tuteur, B., & Guedon, D. (1992). Atividade antioxidante de folhas de *Olea europaea* e compostos fenólicos relacionados. *Phytochemistry*, 31(4), 1173-1178.
- Leme, M. I. S., Camargo, M., Furlani, A. C. F. A., Panizzi, R. C., Leite, R. F., & Rosa, J. (2007). Efeito *in vitro* de capim limão no desenvolvimento micelial de *Colletotrichum acutatum*. *Summa Phytopathologica*, 33(Suplemento).
- Liu, Y., McKeever, L. C., & Malik, N. S. (2017). Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato de folha de oliveira contra patógenos bacterianos de origem alimentar. *Fronteiras em microbiologia*, 8, 113.
- Locher, C. P., Burch, M. T., Mower, H. F., Berestecky, J., Davis, H., Van Poel, B., & Vlietinck, A. J. (1995). Atividade antimicrobiana e atividade anticomplemento de extratos obtidos de plantas medicinais havaianas selecionadas. *Journal of ethnopharmacology*, 49(1), 23-32.
- Maria do Socorro, M. R., Alves, R. E., Brito, E. S., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., & Mancini-Filho, J. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 12(4), 996-1002.
- Mario, D. A. N., Santos, R. C. V., Denardi, L. B., de Almeida Vaucher, R., Santurio, J. M., & Alves, S. H. (2016). Interferência da melanina no perfil de suscetibilidade de espécies de *Sporothrix* à anfotericina B. *Revista Iberoamericana de Micología*, 33(1), 21-25.
- Markin, D., Duek, L., & Berdicevsky, I. (2003). *In vitro* antimicrobial activity of olive leaves. Antimikrobielle Wirksamkeit von Olivenblättern *in vitro*. *Mycoses*, 46(3-4), 132-136.
- Mello, L. D., & Pinheiro, M. F. (2012). Aspéctos físico-químicos de azeite de oliva e de folhas de oliveira provenientes de cultivares do RS, Araraquara, Brasil. *Alimentos e Nutrição*, 23(4), 537-548.
- Menz, G., & Vriesekoop, F. (2010). Physical and chemical changes during the maturation of Gordal Sevillana olives (*Olea europaea* L., cv. Gordal Sevillana). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(8), 4934-4938.
- Nascimento, G. G., Locatelli, J., Freitas, P. C., & Silva, G. L. (2000). Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, 31(2), 247-256.
- NCCLS, (2002). Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica de Fungos Filamentosos; Norma Aprovada. NCCLS document M38-A (ISBN 1-56238-470-8).
- Nunan, E. D. A., Campos, L. M. M. D., Paiva, R. L. R., Oliveira, S. T. D., Dadoun, H. A., & Oliveira, A. B. D. (1985). Estudo da atividade antimicrobiana de extrato de folha de *Aristolochia gigantea* Mart. E Zucc. *Revista de Farmácia e Bioquímica*, Belo Horizonte, 6(1), 33-40.
- Nunes, M. A., Costa, A. S., Bessada, S., Santos, J., Puga, H., Alves, R. C., & Oliveira, M. B. P. (2018). Olive pomace as a valuable source of bioactive compounds: A study regarding its lipid-and water-soluble components. *Science of The Total Environment*, 644, 229-236.
- Nweze, E. I., & Eke, I. E. (2018). Dermatophytes and dermatophytosis in the eastern and southern parts of Africa. *Medical Mycology*, 56(1), 13-28.
- Özcan, M. M., & Matthäus, B. (2017). Uma revisão: benefícios e propriedades bioativas das folhas de oliveira (*Olea europaea* L.). *Pesquisa e Tecnologia Alimentar Europeia*, 243(1), 89-99.
- Pacetta, C. F. (2013). *Estudo de diferentes metodologias para obtenção de extratos de folhas de oliveira (Olea europaea) contendo Oleuropeína*. 82f. Dissertação (Mestrado Ciências da Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga.
- Pereira, A. P., Ferreira, I. C., Marcelino, F., Valentão, P., Andrade, P. B., Seabra, R., & Pereira, J. A. (2007). Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) leaves. *Molecules*, 12(5), 1153-1162.
- Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). Metodologia da pesquisa científica. [e-book]. Santa Maria. Ed (pp. 3-9). *UAB/NTE/UFMS*. Disponível em: [https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic\\_Computacao\\_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf](https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf).
- Pereira, J. A., Pereira, A. P., Ferreira, I. C., Valentão, P., Andrade, P. B., Seabra, R., & Bento, A. (2006). Table olives from Portugal: phenolic compounds, antioxidant potential, and antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(22), 8425-8431.
- Pereira, R. S., Dos Santos, H. D. H., Moraes, O.S., Júnior, D. P. L., & Hahn, R. C. (2020). Saúde pública infantil: perigo de exposição a fungos patogênicos em locais de lazer na região centro-oeste do Brasil. *Jornal de infecção e saúde pública*, 13(1), 51-57.
- Petridis, A., Therios, I., & Samouris, G. (2012). Variação genotípica da concentração de fenol total e oleuropeína e atividade antioxidante de 11 cultivares de azeitona grega (*Olea europaea* L.). *HortScience*, 47(3), 339-342.
- Pinto, T. J. A., Kaneko, T. M., & Ohara, M. T. (2003). *Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos*: 2.ed. São Paulo: Atheneu Editora, 325.

- Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Meier, C., Kähkönen, M., Heinonen, M., Hopia, A., & Oksman-Caldentey, K.-M. (2001). Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *J. Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(4), 494-507.
- Rafiei, Z., Jafari, S., Aalami, M., & Khomeiri, M. (2012). Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de folhas de oliveira pelo método ELISA. *Jornal iraniano de plantas medicinais e aromáticas*, 28, 280-292.
- Ramesh, N., Viswanathan, M. B., Saraswathy, A., Balakrishna, K., Brindha, P., & Lakshmanaperumalsamy, P. (2002). Estudos fitoquímicos e antimicrobianos de *Begonia malabarica*. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(1), 129-132.
- Ranalli, A., Contento, S., Lucera, L., Di Febo, M., Marchegiani, D., & Di Fonzo, V. (2006). Fatores que afetam o conteúdo de oleuropeína iridóide em folhas de oliveira (*Olea europaea* L.). *Jornal de química agrícola e alimentar*, 54(2), 434-440.
- Rengasamy, M., Shenoy, M. M., Dogra, S., Asokan, N., Khurana, A., Poojary, S., Jayaraman, J., Valia, A. R., Sardana, K., Kolalapudi, S., Marfatia, Y., Rao, P. N., Bhat, R. M., Kura, M., Pandhi, D., Barua, S., & Kaushal, V. (2020). Indian association of dermatologists, venereologists and leprologists (IADVL) task force against recalcitrant tinea (ITART) consensus on the management of glabrous tinea (INTACT). *Indian Dermatology Online Journal*, 11(4), 502.
- Rodrigues, A. M., de Melo Teixeira, M., de Hoog, G. S., Schubach, T. M. P., Pereira, S. A., Fernandes, G. F., & de Camargo, Z. P. (2013). A análise filogenética revela uma alta prevalência de *Sporothrix brasiliensis* em surtos de esporotricose felina. *PLoS doenças tropicais negligenciadas*, 7(6), e2281.
- Roig, A., Cayuela, M. L. & Sánchez-Monedero, M. A. (2006) Uma visão geral sobre os resíduos do moinho de azeitona e seus métodos de valorização. *Waste Management*, 26(9), 960-969.
- Rossow, J. A., Queiroz-Telles, F., Cáceres, D. H., Cerveja, K. D., Jackson, B. R., Pereira, J. G., Ferreira Gremião, I. D., & Pereira, S. A. (2020). Uma abordagem One Health no combate ao *Sporothrix brasiliensis*: Revisão narrativa de um fungo patogêno zoonótico emergente na América do Sul. *Journal of Fungi*, 6(4), 247.
- Sanchotene, K. O., Brandolt, T. M., Klafke, G. B., Poester, V. R., & Xavier, M. O. (2017). *In vitro* susceptibility of *Sporothrix brasiliensis*: Comparison of yeast and mycelial phases. *Medical Mycology*, 55(8), 869-876.
- Silva, G. S. (2006). Substâncias naturais: uma alternativa para o controle de doenças. *Fitopatologia Brasileira*. Brasília, 31(9).
- Sudjana, A.N., D'Orazio, C., Ryan, V., Rasool, N., Ng, J., Islam, N., ... & Hammer, K. A. (2009). Atividade antimicrobiana do extrato comercial de folhas de *Olea europaea* (oliva). *Jornal internacional de agentes antimicrobianos*, 33(5), 461-463.
- Talapko, J., Juzbašić, M., Matijević, T., Pustijanac, E., Bekić, S., Kotris, I., & Škrlec, I. (2021). *Candida albicans* - os fatores de virulência e manifestações clínicas da infecção. *Journal of Fungi*, 7(2), 79.
- Talhaoui, N., Taamalli, A., Gómez-Caravaca, A. M., Fernández-Gutierrez, A., & Segura-Carretero, A. (2015). Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. *Food Research International*, 77, 92-108.
- Teramoto, J. R. S., Bertoncini, E. I., & Pantano, A. P. (2010). Histórico da introdução da cultura da oliveira no Brasil. *Infobibos-Organização de Eventos Científicos, Cursos e Treinamentos*.
- Thielmann, J., Kohnen, S., & Hauser, C. (2017). Antimicrobial activity of *Olea europaea* Linné extracts and their applicability as natural food preservative agents. *International Journal of Food Microbiology*, 251, 48-66.
- Vandeputte, P., Ferrari, S., & Coste, A. T. (2012). Resistência a antifúngicos e novas estratégias para controle de infecções fúngicas. *Revista Internacional de Microbiologia*, 1-26.
- Vásquez-del-Mercado, E., Arenas, R., & Padilla-Desgarennes, C. (2012). Journal: Clinics in Dermatology, 2012, № 4, p. 437-443. *Clinics in Dermatology*, (4), 437-443.
- Vogel, P., Kasper Machado, I., Garavaglia, J., Zani, V. T., De Souza, D., & Morelo, S. D. B. (2014). Benefícios dos polifenóis da folha de oliveira (*Olea europaea* L.) para a saúde humana. *Nutrição Hospitalaria*, 31(3), 1427-1433.
- Zapata, N., & Smaghe, G. (2010). Repellency and toxicity of essential oils from the leaves and bark of *Laurelia sempervirens* and *Drimys winteri* against *Tribolium castaneum*. *Industrial Crops and Products*, 32(3), 405-410.

## 5 Considerações Finais

A atividade fungistática dos extratos hidroalcoólicos de folhas de *Olea europaea* L. se sobressaíram no resultado final de todo experimento, apresentando ação inibitória nas concentrações de 50 mg/ml, 100 mg/ml e 200 mg/ml, seguido do extrato aquoso de decocção nas mesmas concentrações. Os extratos hidroalcoólicos do bagaço da variedade Picual e das folhas das variedades Picual e Arbequina apresentaram atividade promissora frente aos isolados de *M. gypseum*, apresentando CIM que variaram de 100 mg/ml a 200 mg/ml. Porém, nenhum dos extratos testados apresentou ação fungicida.

Os extratos de infusão e hidroalcoólicos das folhas da variedade Picual apresentaram maior ação inibitória especialmente frente aos isolados de *Candida* spp. e *S. brasiliensis* apresentando parâmetros importantes para apontar os produtos como uma alternativa terapêutica após próximos testes, verificação da citotoxicidade e utilização em modelos *in vivo*, incentivando seu potencial de aplicação. Os resultados demonstram utilidade potencial desses extratos no tratamento da dermatofitose, no entanto, mais estudos devem ser realizados frente as demais espécies de dermatófitos, para comprovação de sua efetividade, além dos já citados testes de citotoxicidade para avaliar seu uso seguro frente à casos clínicos dessa micose.

## Referências

ABRUNHOSA, A. O Lado Saudável do Azeite. **Revista Az-zait**, Casa do Azeite, p. 40-55. 2009.

AGRAWAL, S.; NANDEIBAM, J.; DEVI, I. Danger of exposure to keratinophilic fungi and other dermatophytes in recreational place in the northeast region of India. **Aerobiologia**, p. 1- 12. 2021.

AHMAD, A.; KHAN, A.; YOUSUF, S.; KHAN, L.A.; MANZOOR, N. Proton translocating ATPase mediated fungicidal activity of eugenol and thymol. **Fitoterapia**, v. 81, p. 1157-1162. 2010.

AL-AZZAWIE, H. F.; ALHAMDANI, M. S. Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. **Life Sciences**, v. 78, n. 12, p. 1371-1377. 2006.

ALCAIDE, E. M.; GARCÍA, A. M.; RUIZ, D. R. Y. Los subproductos del olivar en la alimentación de rumiantes. **Albéitar: publicación veterinaria independiente**, n. 140, p. 32-34. 2010.

ALENCAR, Débora de Souza Olartechea de. **Caracterização de Candida spp. isoladas de hemocultivo e aspectos clínicos de candidemia**. 2013. 81f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-oeste, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2013.

ALMEIDA, A.J.; REIS, N.F.; LOURENÇO, C.S.; COSTA, N.Q.; BERNARDINO, M.L.A.; VIEIRADA-MOTTA, O. Esporotricose em felinos domésticos (*Felis catus domesticus*) em Campos dos Goytacazes, RJ. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.38, n.7, p. 1438-1443. 2018.

ALMEIDA-PAES, R.; FRASES, S.; MONTEIRO, P.C.F.; GUTIERREZ-GALHARDO, M.C.; ZANCOPÉ-OLIVEIRA, M.Z. Growth conditions influence melanization of Brazilian clinical *Sporothrix schenckii* isolates. **Microbes and Infection**, v.11, n.5, p.554–562. 2009.

ALVES, Junia de Oliveira. **Espectrometria de massas com ionização electrospray (esi-ms) e métodos quimiométricos: caracterização de azeites de oliva (extra virgem e puro) e outros óleos vegetais e quantificação de óleos adulterantes em azeite de oliva extra virgem**. 2010. 101 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica)- Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

ALY, F. M.; OTHMAN, A.; HARIDY, M. A. M. Protective Effects of Fullerene C60 Nanoparticles and Virgin Olive Oil against Genotoxicity Induced by

Cyclophosphamide in Rats. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2018. 2018.

ANNAPURNA, J.; BHALERAU, U. T.; IYENGAR, D. S. Antimicrobial activity of *Saraca asoca* leaves. **Fitoterapia**, Milão, v.70, n.1, p.80-82. 1999.

ANTUNES, B. F.; SILVA, L. A.; ALVES, P. I. C.; ROQUE, V. R.; GANDRA, E. A.; ZAMBIAZI, R. C. Atividade antibacteriana de extratos de folhas de oliveira (*Olea europaea* L.) da região da campanha gaúcha. In: **ENPOS XX ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO**. 2017.

AOUIDI, F.; DUPUY, N.; ARTAUD, J.; ROUSSOS, S.; MSALLEM, M.; GAIME, I.P.; HAMDI, M. Rapid quantitative determination of oleuropeína in olive leaves (*Olea europaea*) using mid-infrared spectroscopy combined with chemometric analyses. **Industrial Crops and Products**, v. 37, n. 1, p. 292-297. 2012.

ARANTES, Regina. **Avaliação da ação do pó da folha de oliveira (D-lenolato) em indicadores fisiológicos do murganho**. 2008. 89f. Dissertação (Mestrado em Biologia Clínica Laboratorial), Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, 2008.

AREE, T.; JONGRUNGRUANGCHOK, S. Structure–antioxidant activity relationship of  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes with olive tyrosol, hydroxytyrosol and oleuropein: Deep insights from X-ray analysis, DFT calculation and DPPH assay. **Carbohydrate Polymers**, v. 199, p. 661 – 669. 2018.

ASSIS, C.P.; GONDIM, M. G.; SIQUEIRA, H. A.; CÂMARA, C. A. Toxicity of essential oils from plants towards *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) and *Suidasia pontifica* Oudemans (Acari: Astigmata). **Journal of Stored Products Research**, vol. 47, n. 4, p. 311-315. 2011.

AYRES, M. C.; BRANDÃO, M. S.; VIEIRA-JÚNIOR, G. M.; MENOR, J. C. A.; SILVA, H. B.; SOARES, M. J. S.; CHAVES, M. H. Atividade antibacteriana de plantas úteis e constituintes químicos da raiz de *Copernicia prunifera*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 1, p. 90-97. 2008.

AYTUL, K.K. **Atividades antimicrobianas e antioxidantes do extrato de folha de oliveira e suas aplicações alimentícias**. 2010. 102f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Escola de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências do Instituto de Tecnologia de İzmir, Turquia, 2010.

AZIZ, N. H.; FARAG, S.E.; MOUSA, L.A.; ABO-ZAID, M.A. Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. **Microbios**, n. 93, p. 43–54. 1998.

BAKHOUCHE, A.; LOZANO-SÁNCHEZ, J.; BELTRÁN-DEBÓN, R.; JOVEN, J.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Phenolic characterization and geographical classification of commercial Arbequina extra-virgin olive oils produced in southern Catalonia. **Food Research International**, v. 50, p. 401-408. 2013.

- BALDA, A.C.; LARSSON, C.E.; OTSUKA, M.; GAMBALE, W. Estudo retrospectivo de casuística das dermatofitoses em cães e gatos atendidos no serviço de dermatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32(2), p. 133-140. 2004.
- BARBOSA JÚNIOR, A. M.; MÉLO, D. M. D.; ALMEIDA, F. D.; TRINDADE, R. Estudo comparativo da susceptibilidade de isolados clínicos de *Cryptococcus neoformans* (Sanfelice, 1895) frente a alguns antifúngicos de uso hospitalar e extratos vegetais obtidos de plantas medicinais da região semiárida sergipana. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, n. 1. 2015.
- BARRANCO, D. Variedades Y Patronos. In: BARRANCO, D. FERNANDEZ-ESCOBAR, R. F. **El cultivo del olivo**. 6 ed. Madri: Mundi-Prensa, p. 63-93. 2008.
- BARROS, M. B. L.; PAES, R. A.; SCHUBACH, A. O. *Sporothrix schenckii* and *Sporotrichosis*. **Clinical Microbiology Reviews**, 24(4), 633–654. 2011.
- BARRY, A.L.; THORNSBERRY, C. Susceptibility tests: Diffusion Test Procedures. In: BALOWS, A; HAUSER, W.J.; HERMANN, K.L.; ISENBERG, H.D.; SHAMODY, H.J. Manual of clinical microbiology. 5.ed. Washington, DC: **American Society for Microbiology**, p. 1117-1125. 1991.
- BATTINELLI, L.; DANIELE, C.; CRISTIANI, M.; BISIGNANO, G.; SAIJA, A.; MAZZANTI, G. *In vitro* antifungal and anti-elastase activity of some aliphatic aldehydes from *Olea europaea* L. fruit. **Phytomedicine**, n 13, p. 558-63. 2006.
- BAUER, A. W., KIRBY, W. M. M., SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, n 45, p. 493-6. 1966.
- BAYRAM, M.; TOPUZ, S.; CAYA, C. Antioxidante, Atividade Antimicrobiana do Extrato de Folha de Oliveira e Oleuropeína, Suas Possibilidades de Uso em Alimentos. **Jornal Turco da Agricultura - Ciência e Tecnologia Alimentar**, n. 8, v. 2, p. 337-347. 2020.
- BELTRAN, M.S.; JIMÉNEZ, M.; AMÉZQUITA-LÓPEZ, B.A.; MARTÍNEZ-RODRIGUEZ, C.; CHAIDEZ, C. Antibacterial activity of ozonized Olive (*Olea Europaea* L.) and Venadillo (*Swietenia humilis zucc.*) oils against *Escherichia Coli* and *Staphylococcus aureus*. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 6, p. 947-949. 2016.
- BENAVENTE-GARCÍA, O; CASTILLO, L.; LORENTE, J.; ORTUÑO, A.; DEL RIO, J. A. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. **Food Chemistry**, v. 68, n. 4, p. 457-462. 2000.
- BERTONCINI, E. I.; TERAMOTO, J. R. S.; PRELA-PANTANO, A. **Desafios para produção de azeite no Brasil**. [SI], 2010. Artigo em hipertexto. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2010\\_4/DesafioOliva/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2010_4/DesafioOliva/index.htm)>. Acesso em: 02 nov 2021.

- BISIGNANO, G.; TOMAINO, A.; LO CASCIO, R.; CRISAFI, G.; UCCELLA, N.; SAIJA, A. On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 51, n. 8, p. 971-974. 1999.
- BLANCO, J.L.; GARCIA M.E. Immune response to fungal infections. **Vet Immunol Immunopathol**, 125: 47-70. 2008.
- BÖHMER, Bruna Wendt. **Potencial antimicrobiano e antitumoral de compostos fenólicos extraídos do bagaço oriundo da obtenção de azeite de oliva (*Olea europaea* L.)**. 2018. 77p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.
- BOHN, J. **O Grande Livro da Oliveira e do Azeite**. Lisboa, Portugal: Ed. Dinalivro, 286p. 2013.
- BORBA-SANTOS, L.P.; RODRIGUES, A.M.; GAGINI, T.B.; FERNANDES, G.F.; CASTRO, R.; CAMARGO, Z.P.; NUCCI, M.; LOPES-BEZERRA, L.M.; ISHIDA, K.; ROZENTAL, S. Susceptibility of *Sporothrix brasiliensis* isolates to amphotericin B, azoles and terbinafine. **Medical Mycology**, 53(2), 178-88. 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Projeções do agronegócio: Brasil 2018/19 a 2028/29**. Brasília, 2020. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: 02 nov 2021.
- BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-333. 1998.
- BRILHANTE, R. S. N.; PAIXÃO, G. C.; SALVINO, L. K.; DIÓGENES, M. J. N.; BANDEIRA, S. P.; ROCHA, M. F. G.; SANTOS, J. B.; SIDRIM, J. J. C. Epidemiologia e ecologia das dermatofitoses na cidade de Fortaleza: o *Trichophyton tonsurans* como importante patógeno emergente da *Tinea capitis*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 33, n. 5, p. 417-25. 2000.
- BRITO, E.H.S.; FONTENELLE, R.O.S.; BRILHANTE, R.S.N.; CORDEIRO, R.A.; SOARES JÚNIOR, F.A.; MONTEIRO, A.J.; SIDRIM, J.J.C.; ROCHA, M. F.G. Phenotypic characterization and in vitro antifungal sensitivity of *Candida* spp. and *Malassezia pachydermatis* strains from dogs. **The Veterinary Journal**, v. 174, p. 147-153. 2007.
- BRITO, E.H.S.; FONTENELLE, R.O.S.; BRILHANTE, S.N.R.; CORDEIRO, R.A.; SIDRIM, J.J.C.; ROCHA, M.F.G. Candidose na medicina veterinária: um enfoque micológico, clínico e terapêutico. **Ciência Rural**, v. 39(9), p. 2655-2664. 2009b.
- BROWN, M.R.; THOMPSON, C.A.; MOHAMED, F.M. Systemic candidiasis in an apparently immunocompetent dog. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.17 (3), p.272-276. 2005.
- CALEJA, C.; BARROS, L.; OLIVEIRA, M. B. P.P.; SANTOS-BUELGA, C.; FERREIRA, I. C. F. R. Caracterização do perfil fenólico de extratos aquosos de

*Matricaria recutita* L. obtidos por decocção. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 40, p. 136-139. 2017.

CARDOSO, C. S.; DIAS, M. F. P. Cadeia da Olivicultura. **Série Agronegócios do Sul**, p. 1-15, 2018. Disponível em: <<https://wp.ufpel.edu.br/gpeia/files/2018/02/cadeia-da-olivicultura-1.pdf>> . Acesso em: 15 nov 2021.

CARVALHO, I. T. **Microbiologia básica**. Recife: EDUFRPE, p 41-47, 2016.

CAVALHEIRO, Caroline Viegas. **Extração de compostos fenólicos assistida por ultrassom e determinação de ácidos graxos e minerais em folhas de *Olea Europaea* L.**. 2013. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

CAVALHEIRO, C.V.; ROSSO, V. D.; PAULUS, E.; CICHOSKI, A. J.; WAGNER, R.; MENEZES, C. R.; BARIN, J. S. Composição química de folhas de oliveira (*Olea europaea* L.) da região de Caçapava do Sul, RS. **Ciência Rural**, v.44, n.10, p.1874-1879. 2014.

CELOTO, M.I.B.; PAPA, M.F.S.; SACRAMENTO, L.V.S.; CELOTO, F.J. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 30, n.1, p.1-5. 2008.

CHERMETTE, R.; FERREIRO, L.; GUILLOT, J. Dermatophytoses in animals. **Mycopathologia**, v. 166, n. 5-6, p. 385-405. 2008.

CLEFF, M.B.; SILVA, G.M.; MEINERZ, A.R.M.; MADRID, I.M.; MARTINS, A.A.; FONSECA, A.O.; NASCENTE, P.S.; MEIRELES, M.C.A.; MELLO, J.R.B. Infecção cutânea em cão por *Candida albicans*. **Revista Veterinária e Zootecnia**, 14(2), 164-168. 2007.

CLEFF, M.B.; SOARES, M.P.; MADRID, I.M.; MEINERZ, A.R.M.; XAVIER M.O.; ALBANO, A.P.N.; FONSECA, A.O.; SILVEIRA, E.; MEIRELES, M.C.A. Candidíase cutânea em *Cebus apella* (macacoprego). **Ciência Animal Brasileira**, 9(3), 791-795. 2008.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi**. 3rd ed. CLSI standard M38. Wayne, PA. 2017.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement**. CLSI document M100-S23. Wayne, PA. 2020.

COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 36 , p. 599-607. 2003.



COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T.; CAMARGO, L. F. A.; RICHTMANN, R.; QUEIROZ-TELLES, F.; SALLES, M. J. C.; CUNHA, C. A.; YASUDA, M. A. S.; MORETTI, M.L.; NUCCI, M. Diretrizes brasileiras para o manejo da candidíase - relatório de reunião conjunta de três sociedades médicas: Sociedade Brasileira de Infectologia, Sociedade Paulista de Infectologia e Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. **Revista Brasileira de Doenças Infecciosas** , v. 17, n. 3, p. 283-312. 2013.

CORRÊA, T. C. F.; CÁUPER, F. R. M.; DIAS, G. H.; CÁUPER, L. L. B.; COSTA, S. S.; DINI, V. S. Q. Isolamento e caracterização de cepas de *Candida* sp. em pacientes do município de Iranduba-AM e sua susceptibilidade ao extrato de *Psidium guajava* Linn. **Scientia Amazonia**, v. 7, n.2, CS1-CS11. 2018.

COUTINHO, E. F. **A cultura da oliveira**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 143. 2007.

COUTINHO, E. F., RIBEIRO, F. C., & CAPPELLARO, T. H. (Ed.). Cultivo de Oliveira (*Olea europaea* L.) / Enilton Fick Coutinho, Fabrício Carlotto Ribeiro & Thaís Helena Cappellaro — Pelotas: Embrapa Clima Temperado. **Sistema de Produção**, 16, v. 1, 125 p. 2009.

COWAN, M.M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, Oxford, v.12, p. 564-582. 1999.

CROTHERS, S.L.; BRANCO, S.D.; IHRKE, P.J.; AFFOLTER, V.K. Sporotrichosis: a retrospective evaluation of 23 cases seen in northern California (1987–2007). **Veterinary Dermatology**, v. 20, n. 4, p. 249–259. 2009.

DA ROSA, C. S.; MEINERZ, A. R. M.; DA GAMA OSÓRIO, L.; CLEFF, M. B.; MEIRELES, M. C. A. Terapêutica da esporotricose: revisão. **Science and Animal Health**, v. 5, n. 3, p. 212-228. 2017.

DABBOU, S.; CHEHAB, H.; FATEN, B.; DABBOU, S.; ESPOSTO, S.; SELVAGGINI, R.; TATICCHI, A.; SERVILI, M.; MONTEDORO, G. F.; HAMMAMI, M. Effect of three irrigation regimes on Arbequina olive oil produced under Tunisian growing conditions. **Agricultural Water Management**, v. 97, p. 763-768. 2010.

DJIPA, C.D.; DELMÉE, M.; QUETIN-LECLERCQ, J. Antimicrobial activity of bark extracts of *Syzygium jambos* (L.) Alston (*Myrtaceae*). **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v.71, n.1-2, p. 307-313. 2000.

DO SUL, Rio Grande. **Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação**. Pró-Oliva. Porto Alegre, RS, 2022. Disponível em: <<http://www.agricultura.rs.gov.br/pro-oliva>>. Acesso em: 20 jan 2022.

DOGRA, S.; UPRETY, S. The menace of chronic and recurrent dermatophytosis in India: is the problem deeper than we perceive? Indian **Dermatology Online Journal**, v. 7, n. 2, p. 73. 2016.

DONADU, M. G.; PERALTA-RUIZ, Y.; USAI, D.; MAGGIO, F.; MOLINA-HERNANDEZ, J. B.; RIZZO, D.; CHAVES-LOPEZ, C. Óleo essencial colombiano de

Ruta graveolens contra cepas de *Candida* resistentes a antifúngicos nosocomiais. **Revista dos Fungos** , v. 7, n. 5, p. 383. 2021.

EBRAHIMI, M.; ZARRINFAR, H.; NASERI, A.; NAJAFZADEH, M. J.; FATA, A.; PARIAN, M.; KHORSAND, I.; BABIČ, M. N. Epidemiology of dermatophytosis in northeastern Iran; A subtropical region. **Current Medical Mycology**, v. 5, n. 2, p. 16. 2019.

ELOFF, J.N. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. **Planta Med**, v.64, p. 711-713. 1998.

EL, S.N.; KARAKAYA, S. Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health. **Nutrition Reviews**, v.67, n.11, p.632-638. 2009.

EMBRAPA- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA . **Embrapa discute a Olivicultura**, 2012. Disponível em: <<http://www.cpact.embrapa.br/imprensa/noticias/2012/24102012.php>>. Acesso em: 06 nov 2020.

EXPÓSITO FERNÁNDEZ, C. **Desarrollo de un modelo de predicción de la estabilidad oxidativa del aceite de oliva virgen de la variedad “PICUAL”**. 2021. 71f. Dissertação (Mestrado na Universidade de Olivar e Azeite pela Universidade de Jaén) - UNIVERSIDAD DE JAÉN Centro de Estudios de Postgrado, 2021.

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C.M.O. (Org.). **Farmacognosia- da planta ao medicamento** 4.ed. Porto Alegre/ Florianópolis: UFRGS/UFSC, Cap.4, p.63-72, 2002.

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I. S.; SIMÕES, C. M. O. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. O. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFSC, p. 229-262. 2010.

FAOSTAT - **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2017. Disponível em:<<http://www.fao.org.br>>. Acesso em: 10 nov 2021.

FARAG, R.S.; MAHMOUD, E.A.; BASUNY, A.M. Use suco bruto de folha de oliveira como antioxidante natural para a estabilidade do óleo de girassol durante o aquecimento. **Revista Internacional de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 42, p. 107-115. 2007.

FARIAS, M. R.; GIUFFRIDA, R. Antifúngicos. In: ANDRADE, S. F. **Manual de Terapêutica Veterinária**. 3.ed. São Paulo: Roca, cap.4, p. 73-90. 2008.

FENNELL, C. W.; LINDSEY, K. L.; MCGAW, L. J.; SPARG, S. G.; STAFFORD, G. I.; ELGORASHI, E. E.; VAN STADEN, J. Review: assessing African medicinal plants for efficacy and safety: Pharmacological screening and toxicology. **Journal of Ethnopharmacology**, v.94, n.2, p. 205-217. 2004.

FENNER, R.; BETTI, A. H.; MENTZ, L. A.; RATES, S. M. K. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 42, n. 3, p. 369-394. 2006.

FERESIN, G. E.; TAPIA, A.; LOPEZ, S. N.; ZACCHINO, S. A. Antimicrobial activity of plants used in traditional medicine of San Juan province, Argentine. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v.78, n.1, p.103-107. 2001.

FERNÁNDEZ-BOLAÑOS, J.; RODRÍGUEZ, G.; RODRÍGUEZ, R.; GUILLÉN, R.; JIMÉNEZ, A. Uso potencial de subprodutos de azeitona, Extração de compostos orgânicos interessantes de resíduos de azeite. **Grasas y Aceites**, 57, p. 95-106. 2006.

FERREIRO, L.; MOREIRA JUNIOR, J.P.R.; APPELT, C.E.; BERG, V.; OLIVEIRA, I.A.; MUSCHNER, A. C.; REISCHAK, D.; CHERMETTE, R. Associações entre o isolamento de *Candida albicans* com a infecção pelo vírus da leucemia felina (FELV), tratamentos com corticosteróides ou antimicrobianos em gatos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.30, n.3, p.179-183. 2002.

GALANAKIS, C. M.; TORNBERG, E.; GEKAS, V. Recovery and preservation of phenols from olive waste in ethanolic extracts. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 85, n. 8, p. 1148-1155. 2010.

GARCÍA-GONZÁLEZ, D.L.; APARICIO, R. Research in olive oil: challenges for the near future. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58(24), p.12569-12577. 2010.

GHOMARI, O., SOUNNI, F.; MASSAOUDI, Y.; GHANAM, J.; DRISSI KAITOUNI, L.B.; MERZOUKI, M.; BENLEMLIH, M. Perfil fenólico (HPLC-UV) de folhas de oliveira de acordo com o procedimento de extração e avaliação da atividade antibacteriana. **Relatórios de Biotecnologia**, 23, e00347. 2019.

GIANELLI, M.; ARAUJO, M.A.R.; PROENÇA, N.G.; ZAITZ, C. Dermatofitose: estudo epidemiológico prospectivo. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 63, p. 9-12. 2010.

GIOLO, M. P.; SVIDZINSKI, T. I. E.; Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia. **Jornal Brasileiro de Patologia Médica Laboratorial**, v. 46, n. 3, p. 225-234. 2010.

GOMES, R. P. **A olivicultura no Brasil**. 2.ed. São Paulo: Nobel, p. 237. 1979.

GONÇALVES, J.C.; GREMIÃO, I.D.F.; KÖLLING, G.; DUVAL, A.E.A.; RIBEIRO, P.M.T. Esporotricose, o gato e a comunidade. **Enciclopédia Biosfera**, v.16, n.29, p.769-787. 2019.

GONZÁLEZ, L. G. **Estudio del potencial productivo y caracterización de los aceites obtenidos de los cultivares “Picual”, “Arbequino” y “Cornezuelo”**. 2016. 199 f. Tese (Doutorado em Biologia vegetal, ecologia e ciências da terra) - Universidad de Extremadura, Espanha, 2016.

GREMIÃO, I.D.; SCHUBACH, T.M.P.; PEREIRA, S.A.; RODRIGUES, A.M.; HONSE, C.D.O.; BARROS, M.B. Treatment of refractory feline sporotrichosis with a combination of intralesional amphotericin B and oral itraconazole. **Australian Veterinary Journal**, v.89, p.346–351. 2011.

GREMIÃO, I.D.F.; ROCHA, E.M.S.; MONTENEGRO, H.; CARNEIRO, A.J.B.; XAVIER, M.O.; FARIAS, M.R.; MONTI, F.; MANSO, W.; PEREIRA, R.H.M.A.; PEREIRA, S.A.; LOPES-BEZERRA, L.M. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.52, n.1, p.107-124. 2021.

GUERRERO, A. **Nueva Olivicultura**. 5.ed. Mundi-Prensa Libros. Madrid, p. 304. 2003.

GUINDA, A.; PÉREZ-CAMINO, M. C.; LANZÓN, A. Supplementation of oil with oleonic acid from the olive leaf (*Olea europaea*). **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 106, n. 1, p. 22-26. 2004.

GUINDA, A. Aproveitamento de resíduo sólido da olivicultura. **Grasas Y Aceites**, 57, p.107-115. 2006.

HAMDI, H. K.; CASTELLON, R. Oleuropein, a non-toxic olive iridoid, is an anti-tumor agent and cytoskeleton disruptor. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 334, n. 3, p. 769-778. 2005.

HERRERO, M.; TEMIRZODA, T.N.; SEGURA-CARRETERO, A.; QUIRANTES, R.; PLAZA, M.; IBAÑEZ, E. Novas possibilidades para a valorização dos subprodutos do azeite. **Jornal de cromatografia**, 42, p. 7511-7520. 2011.

HNILICA, K.A.; PATTERSON, A.P. **Dermatologia de Pequenos Animais: Atlas Colorido e Guia Terapêutico**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 633. 2018.

HOFFMANN, F. L. Fatores limitantes à proliferação de microorganismos em alimentos. **Brasil Alimentos**, São José do Rio Preto, n. 9, p. 23-30. 2001.

IBRAOLIVA - Instituto Brasileiro de Olivicultura. **Abertura oficial da colheita da oliva será em Caçapava do Sul**. 2020. Disponível em: <<https://www.ibraoliva.com.br/noticias/detalhe/77/abertura-oficial-dacolheita-da-oliva-sera-em-cacapava-do-sul>>. Acesso em: 04 nov 2021.

IBRAOLIVA - Instituto Brasileiro de Olivicultura. **Safra 2021 de oliveiras traz boas expectativas aos produtores**. 2021. Disponível em: <<https://www.ibraoliva.com.br/noticias/detalhe/107/safra-2021-de-oliveiras-traz-boas-expectativas-aos-produtores>>. Acesso em: 22 jan 2022.

IOC - International Olive Council. **International olive figures**, Madrid. 2018. Disponível em: <<http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/131-world-olive-oil-figures>>. Acesso em: 10 nov 2021.

JACOBSEN, M.D.; BOUGNOUX, M.; D'ENFERT, C.; ODDS, F.C. Multilocus sequence typing of *Candida albicans* isolates from animals. **Research in Microbiology**, v. 159(6), p. 436-440. 2008.

JADHAV, V.J.; PAL, M. Canine mycotic stomatitis due to *Candida albicans*. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v.23, p.233-234. 2006.

JAPÓN-LUJÁN, R.; LUQUE-RODRÍGUEZ, J. M.; LUQUE DE CASTRO, M. D. Multivariate optimization of the microwaveassisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 385, n. 4, p. 753-759. 2006.

JIMENEZ, P.; MASSON, L.; BARRIGA, A.; CHÁVEZ, J.; ROBERT, P. Oxidative stability of oils containing olive leaf extracts obtained by pressure, supercritical and solvent-extraction. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 113, n. 4, p. 497-505. 2011.

JOSHI, S.; SHRESTHA, S.; TIMOTHY, U.; JHA, A. K.; THAPA, D. P. Health seeking behavior and cost of care of chronic dermatophytosis: A hospital-based cross-sectional study. **Nepal Medical College Journal**, v. 22, n. 3, p. 181-188. 2020.

KARAMAN, I.; SAHIN, F.; GÜLLÜCE, M.; OGÜTÇÜ, H.; SENGÜL, M.; ADIGÜZEL, A. Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v 85, p. 231-235. 2003.

KHAN, M.R.; KIHARA, M.; OMOLOSO, A.D. Antimicrobial activity of *Symplocos cochinchinensis*. **Fitoterapia**, Milão, v.72, n.7, p.825-828. 2001.

KING, T.; DYKES, G.; KRISTIANTI, R. Comparative evaluation methods commonly used to determine antimicrobial susceptibility to plant extracts and phenolic compounds. **Journal of AOAC International**, Australia, v.91, n.6, p.1423-1429. 2008.

KINNISON, T.; GUILLE, D.; MAY, S. Errors in veterinary practice: preliminary lessons for building better veterinary teams. **Veterinary Record**, v.177, n.19, p. 492-492. 2015.

KIRITSAKIS, K.; KONTOMINAS, M.G.; KONTOGIORGIS, C.; HADJIPAVLOU-LITINA, D.; MOUSTAKAS, A.; KIRITSAKIS, A. Composição e atividade antioxidante de extratos de folhas de oliveira de cultivares de oliveiras gregas. **Jornal da American Oil Chemists' Society**, 87, p. 369–376. 2010.

KORUKLUOGLU, M.; SAHAN, Y.; YIGIT, A.; KARAKAS, R. Antifungal activity of olive leaf (*Olea Europaea* L.) extracts from the Trilye region of Turkey. **Annals of Microbiology**, v. 56, p.359–362. 2006.

KOSTELENOS, G.; KIRITSAKIS, A. Olive tree history and evolution. In: KIRITSAKIS, A.; SHAHIDI, F. (Ed.) Olives and olive oil as functional foods: bioactivity, chemistry and processing. **John Wiley & Sons**, p. 1-12. 2017.

KOZAK, M.; BILEK, J.; BELADICOVA, V.; BELADICOVA, K.; BARANOVA, Z.; BUGARSKY, A. Study of the dermatophytes in dogs and the risk of human infection. **Bratisl Lek Listy**, v.104, p.211-217. 2003.

LACAZ, C.S.; PORTO, E.; MARTINS, J.E.C.; HEINS-VACCARI, E.M.; MELO, N.T. Esporotricose. In: LACAZ, C.S.; PORTO, E.; MARTINS, J.E.C.; HEINS-VACCARI, E.M.; MELO (ed.) **Tratado de Micologia Médica**, 9ª ed., Savier, São Paulo, p.479-497. 2002.

LE TUTOUR, B; GUEDON, D. Atividade antioxidante de folhas de *Olea europaea* e compostos fenólicos relacionados. **Phytochemistry**, v.31, p.1173-1178. 1992.

LEME, M. I. S.; CAMARGO, M.; FURLANI, A. C. F. A.; PANIZZI, R. C.; LEITE, R. F.; ROSA, J. Efeito in vitro de capim-limão no desenvolvimento micelial de *Colletotrichum acutatum*. **Summa Phytopathologica**. Botucatu, v. 33, p. 92. 2007.

LIU, Y.; MCKEEVER, L. C.; MALIK, N. S. A. Assessment of the Antimicrobial Activity of Olive Leaf Extract Against Foodborne Bacterial Pathogens. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. 113. 2017.

LOCHER, C. P.; BURCH, M. T.; MOWER, H. F.; BERESTECKY, J.; DAVIS, H.; VAN POEL, B.; VLIETINCK, A. J. Antimicrobial activity and anticomplement activity of extracts obtained from selected Hawaiian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v.49, n.1, p.23-32. 1995.

LOZANO-SÁNCHEZ, J.; CASTRO-PUYANA, M.; MENDIOLA, J.A.; SEGURA-CARRETERO, A.; CIFUENTES, A.; IBÁÑEZ, E. Recovering bioactive compounds from olive oil filter cake by advanced extraction techniques. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 9, p. 16270-16283. 2014.

LOZANO-MENA, G.; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, M.; JUAN, M.E.; PLANAS, J.M. Ácido Maslínico, um Triterpeno Natural do Tipo Fitoalexina das Azeitonas - Um Nutracêutico Promissor? **Moléculas**, v. 19, ed. 8, p. 11538-11559. 2014.

LUGMAN, S.; DWIVEDI, G. R.; DAROKAR, M. P.; KALRA, A.; KHANUJA, S. P. Potential of rosemary oil to be used in drug-resistant infections. **Alternative Therapies in Health and Medicine**, v. 13, n. 5, p. 54-59. 2007.

LUQUE DE CASTRO, M. D. L.; PRIEGO-CAPOTE, F. P. Soxhlet extraction: past and present panacea. **Journal of Chromatography A**, v.1217, n. 16, p. 2383-2389. 2010.

MALHEIRO, R.; CASAL, S.; TEIXEIRA, H.; BENTO, A.; PEREIRA, J.A. Efeito da adição de folhas de oliveira durante o processo de extração de frutos maduros na qualidade do azeite. **Tecnologia de Alimentos e Bioprocessos**, v. 6, p. 509-521. 2013.

MARIA DO SOCORRO, M.R.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant

capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, 12(4), 996-1002. 2010.

MARIO, D. A. N.; SANTOS, R. C. V.; DENARDI, L.B.; DE ALMEIDA, R.V.; SANTURIO, J.M.; ALVES, S.H. Interference of melanin in the susceptibility profile of *Sporothrix* species to amphotericin B. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 33, n. 1, p.21–25. 2016.

MARKIN, D.; DUEK, L.; BERDICEVSKY, I. Atividade antimicrobiana *in vitro* de folhas de oliveira. Antimikrobielle Wirksamkeit von Olivenblättern *in vitro*, *Mycoses*, 46(3-4), 132-136. 2003.

MARTINY, T.; RIBEIRO, P. B.; MORAES, C. C.; ROSA, G. S. Atividade antimicrobiana de extratos foliares de *Olea Europaea* L. Em: **ANAIS VIII SIEPE**, Uruguaiana. 2016.

MARTINY, T.; ZORZI, B.; RIBEIRO, P. B.; MORAES, C. C.; ROSA, G.S. Extratos foliares de *olea europaea* l.: uma alternativa aos aditivos químicos convencionais. Em: **XII COBEQ-IC**, CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA. 2017.

MATSUDA, K.; SAKAGUCHI, K.; KOBAYASHI, S.; TOMINAGA, M.; HIRAYAMA, K.; KADOSAWA, T.; TANIYAMA, H. Systemic Candidiasis and Mesenteric Mast Cell Tumor with Multiple Metastases in a Dog. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 71(2): 229– 232. 2009.

MATTEI, A. S.; BEBER, M.A.; MADRID, I.M. Dermatophytosis in small animals. **SOJ. Microbiology & Infectious Diseases**, v. 2, n. 3, p. 1-6. 2014.

MEDINA, E.; CASTRO, A.; ROMERO, C.; BRENES, M. Comparison of the concentrations of phenolic compounds in olive oils and other plant oils: correlation with antimicrobial activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 4954-61. 2006.

MELLO, L. D.; PINHEIRO, M. F. Aspectos físico-químicos de azeites de oliva e de folhas de oliveira provenientes de cultivares do RS, Brasil. **Alimentos e Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 537-548. 2012.

MENDES, P. A. F.; DA SILVA MALHEIRO, R. M. **Caracterização da fração fenólica e atividade biológica de azeitonas de mesa ao natural produzidas na região de Trás-os-Montes**. 2012. 83f. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar), Bragança: Escola Superior Agrária, 2012.

MENZ, G.; VRIESEKOOOP, F. Physical and chemical changes during the maturation of Gordal Sevillana olives (*Olea europaea* L., cv. *Gordal Sevillana*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 8, p. 4934-4938. 2010.

MESQUITA, D. L.; OLIVEIRA, A. F. de; MESQUITA, H. A. Aspectos econômicos da produção e comercialização do azeite de oliva e azeitona. **Informe Agropecuário**.

**Azeitona e azeite de oliva: tecnologias de produção**, Belo Horizonte, v.27, n.231, p.7-21. 2010.

MICOL, V.; CATURLA, N.; PÉREZ-FONS, L.; MÁ S, V.; PÉREZ, L.; ESTEPA, A. The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSV). **Antiviral Research**, v. 66, p. 129-136. 2005.

MILLINGTON, M. A. Esporotricose. **Ministério da Saúde**: CDGT. 2017.

MOODY, J.O.; ADEBIYI, O.A.; ADENIYI, B.A. Do *Aloe vera* and *Ageratum conyzoides* enhance the anti-microbial activity of traditional medicinal soft soaps (Osedudu). **Journal of ethnopharmacology**, v. 92, p. 57-60. 2004.

MORETTI, A.; POSTERARO, B.; BONCIO, L.; MECHELLI, L.; GASPERIS, E.; AGNETTI, F.; RASPA, M. Diffuse cutaneous candidiasis in a dog. Diagnosis by PCR-REA. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v.21, p.139-142. 2004.

MORGADO, F.; SCHUBACH, A.; PIMENTEL, M. I.; LYRA, M.; VASCONCELLOS, E.; VALETE-ROSALINO, C.; CONCEIÇÃO, F. Is There Any Difference Between the In Situ and Systemic IL-10 and IFN- $\gamma$  Production When Clinical Forms of Cutaneous Sporotrichosis Are Compared. **PLoS One**, v. 11, n. 9, p. 2-11. 2016.

MORIELLO, K.A. Feline dermatophytosis: aspects pertinent to disease management in single and multiple cat situations. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 16, n. 5, p. 419-431. 2014.

MORIELLO, K.A.; COYNER, K.; PATERSON, S.; MIGNON, B. Diagnosis and treatment of dermatophytosis in dogs and cats. Clinical Consensus Guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology. **Veterinary Dermatology**, v. 28, n. 3, p. 266-268. 2017.

NAKASU, C.C.T., WALLER, S.B., RIPOLL, M.K. et al. Feline sporotrichosis: a case series of itraconazole-resistant *Sporothrix brasiliensis* infection. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.52, p.163–171. 2021.

NASCIMENTO, G. G.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C.; SILVA, G. L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.31, n.2, p.247-256. 2000.

NCCLS - **Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica de Fungos Filamentosos**; Norma Aprovada. NCCLS document M38-A (ISBN 1-56238-470-8), 2002.

NEGRI M. F.; FARIA M. G.; GUILHERMETT E.; ALVES A. A.; PAULA C. R.; SVIDZINSKI T. I. E. Hemolytic activity and production of germ tubes related to pathogenic potential of clinical isolates of *Candida albicans*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n. 8, p. 99-93. 2010.

NOGUEIRA, Filipa Alexandra Marçal. **Contribuição para caracterização de “Azeitonas de mesa mistas ao natural” produzidas de forma tradicional em**



**Trás-osMontes: Aspectos morfológicos, químicos e microbiológicos.** 2012. 87f. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) - Escola Superior Agrária de Bragança. Bragança, 2012.

NUCCI, M.; THOMPSON-MOYA, L.; GUZMAN-BLANCO, M.; TIRABOSCHI, I.N.; CORTES, J.A.; ECHEVARRÍA, J.; SIFUENTES, J.; ZURITA, J.; SANTOLAYA, M.E.; MATUTE, T.A.; TELLES, F.Q.; COLOMBO, A.L. Recomendações para o manejo da candidemia em adultos na América Latina. **Revista iberoamericana de micología**, v. 30, n. 3, pág. 179-188. 2013.

NUNAN, E. D. A.; CAMPOS, L. M. M. D.; PAIVA, R. L. R.; OLIVEIRA, S. T. D.; DADOUN, H. A.; OLIVEIRA, A. B. D. Estudo da atividade antimicrobiana de extrato de folha de *Aristolochia gigantea* Mart. E Zucc. **Revista de Farmácia e Bioquímica**, Belo Horizonte, v.6, n.1, p.33-40. 1985.

NUNES, M. A.; COSTA, A. S.; BESSADA, S.; SANTOS, J.; PUGA, H.; ALVES, R. C.; OLIVEIRA, M. B. P. Olive pomace as a valuable source of bioactive compounds: A study regarding its lipid-and water-soluble components. **Science of The Total Environment**, 644, p. 229-236. 2018.

NWEZE, E. I.; EKE, I. E. Dermatophytes and dermatophytosis in the eastern and southern parts of Africa. **Medical Mycology**, v. 56, n. 1, p. 13-28. 2018.

OLIVEIRA, A. F. D.; PASQUAL, M.; CHALFUN, N. N. J.; REGINA, M. D. A.; DEL RIO RINCÓN, C. Influência do número de nós em estacas semilenhosas de oliveira (*Olea europaea* L.) no enraizamento sob câmara de nebulização. **Ciência Agrotecnológica**, v.27, n.2, p.332-338. 2003.

OLIVEIRA, M. M. E.; SANTOS, C.; SAMPAIO, P.; ROMEO, O.; ALMEIDA-PAES, R.; PAIS, C.; LIMA, N.; ZANCOPE-OLIVEIRA, R. M. Development and optimization of a new MALDI-TOF protocol for identification of the *Sporothrix* species complex. **Research in Microbiology**, v. 166, n. 2, p. 102–110. 2015.

OSTROSKY, E.A.; MIZUMOTO, M.K.; LIMA, M.E.L.; KANEKO, T.M.; NISHIKAWA, S.O.; FREITAS, B.R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-307. 2008.

OTHMAN, M.; LOH, H.S.; WIART, C.; KHOO, T.J.; LIM, K.H.; TING, K.N. Optimal methods for evaluating antimicrobial activities from plant extracts. **Journal of Microbiological Methods**, v.84, p.161-166. 2011.

OTTONELLI STOPIGLIA, C.D.; MAGAGNIN, C.M.; CASTRILLON, M.R.; MENDES, S.D.C.; HEIDRICH, D.; VALENTE, P.; SCROFERNEKER, M.L. Antifungal susceptibilities and identification of species of the *Sporothrix schenckii* complex isolated in Brazil. **Medical Mycology**, v. 52, n. 1, p. 56–64. 2014.

ÖZCAN, M. M.; MATTHÄUS, B. Uma revisão: benefícios e propriedades bioativas das folhas de oliveira (*Olea europaea* L.). **Pesquisa e Tecnologia Alimentar Europeia**, 243(1), p. 89-99. 2017.

PANJA, P. Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials. **Current Opinion in Food Science**, v. 23, p. 173-182. 2018.

PACETTA, Cosmo Fernando. **Estudo de diferentes metodologias para obtenção de extratos de folhas de oliveira (*Olea europaea*) contendo Oleuropeína**. 2013. 82f. Dissertação (Mestrado Ciências da Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

PATEL, A.; FORSYTHE, P. **Dermatologia em Pequenos Animais**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 379. 2010.

PATERSON, S. Dermatophytosis: an update. **Companion Animal**, v. 22, n. 5, p. 248-253. 2017.

PENNA, C.; MARINO, S.; VIVOT, E.; CRUAÑES, M.C.; MUÑOZ, J.D.D.; CRUAÑES, J.; FERRARO, G.; GUTKIND, G.; MARTINO, V. Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 77, p. 37-40. 2001.

PEREIRA, J. A.; PEREIRA, A. P.; FERREIRA, I.C.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R.; BENTO, A. Table olives from Portugal: phenolic compounds, antioxidant potential and antimicrobial activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p. 8425-8431. 2006.

PEREIRA, A. P.; FERREIRA, I.C.; MARCELINO, F.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P.B.; SEABRA, R.; PEREIRA, J. A. Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. **Molecules**. v. 12, p. 1153-1162. 2007.

PEREIRA, A. V.; TREVISAN, L.F.A.; PEREIRA, M.S.V.; PEREIRA, L.F.; LIMA, E.Q.; PEREIRA, J.V.; PEREIRA, M.V.; RODRIGUES, O.G. Estudo comparativo dos extratos de *Momordica charantia* Linn. e *Psidium guajava* Linn. sobre linhagens de *Staphylococcus aureus* de origem bovinas isoladas no estado da Paraíba. **Agropecuária Técnica**, v. 31, n. 2, p. 174-179. 2010.

PEREIRA, A. S.; SHITSUKA, D.M.; PARREIRA, F.J.; SHITSUKA, R. **Metodologia da pesquisa científica**. [e-book]. Santa Maria. Ed (pp. 3-9). UAB/NTE/UFSM. 2018. Disponível em: <[https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic\\_Computacao\\_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf](https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf)>. Acesso em: 15 jan 2022.

PEREIRA, R. S.; SANTOS, H. D. H.; MORAES, O. S.; JÚNIOR, D. P. L.; ROSANE C.HAHN. Children's public health: Danger of exposure to pathogenic fungi in recreational places in the middle-west region of Brazil. **Journal of Infection and Public Health**, v. 13, n.1, p.51-57. 2020.

PERES, N.T.A.; ROSSI, A.; MARANHÃO, F.C.A.; MARTINEZROSSI, N.M. Dermatofitos: interação patógeno-hospedeiro e resistência a antifúngicos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, n. 5, p. 657-667. 2010.

PETRIDIS, A.; THERIOS, I.; SAMOURIS, G. Variação genotípica da concentração de fenol total e oleuropeína e atividade antioxidante de 11 cultivares de azeitona grega (*Olea europaea* L.). **HortScience**, v. 47, n. 3, pág. 339-342. 2012.

PFALLER, M.A.; DIEKEMA, D.J. Twelve years of fluconazole in clinical practice: global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of bloodstream isolates of *Candida*. **Clinical Microbiology and Infection**, v.10, n.1, p.11-23. 2004.

PINTO, T.J.A.; KANEKO, T.M.; OHARA, M.T. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos** 2.ed. São Paulo: Atheneu Editora, p. 325. 2003.

POESTER, V.R.; MATTEI, A.S.; MENDES, J.F.; KLAFKE, G.B.; RAMIS, I.B.; SANCHOTENE, K.O.; XAVIER, M.O. Atividade antifúngica do disseleneto de difenil sozinho e em combinação com itraconazol contra *Sporothrix brasiliensis*. **Micologia médica**, 57 (3), p. 328-331. 2019.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; NOHYNEK, L.; MEIER, C.; KÄHKÖNEN, M.; HEINONEN, M.; HOPIA, A.; OKSMAN-CALDENTY, K.-M. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. **Journal of Applied Microbiology**, v.90, p.494- 507. 2001.

RAFIEI, Z.; JAFARI, S.; AALAMI, M.; KHOMEIRI, M. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de folhas de oliveira pelo método ELISA. **Jornal iraniano de plantas medicinais e aromáticas**, 28, p. 280-292. 2012.

RAMADINHA, R.R.; REIS, R.K.; CAMPOS, S.G.; RIBEIRO, S.S.; PEIXOTO, P.V. Lufenuron no tratamento da dermatofitose em gatos?. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 30 (2), p. 132-138. 2010.

RAMESH, N.; VISWANATHAN, M.B.; SARASWATHY, A.; BALAKRISHNA, K.; BRINDHA, P.; LAKSHMANAPERUMALSAMY, P. Phytochemical and antimicrobial studies of *Begonia malabarica*. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v.79, n.1, p.129-132. 2002.

RAMOS, Polianna de Paula. **Isolamento, caracterização de Rizobactérias promotoras de crescimento e avaliação da Microbiolização em estacas Semilenhosas de Oliveira (*Olea europaea* L.)**. 2018. 72f. Dissertação (Mestrado em meio ambiente e recursos hídricos) – Universidade Federal de Itajubá, UNIFEI, 2018.

RANALLI, A.; CONTENTO S.; LUCERA, L.; FEBO, M.; MARCHEGIAN, D.; FONZO, V. Factors Affecting the Contents of Iridoid Oleuropein in Olive Leaves (*Olea europaea* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p. 434–440. 2006.

REICHLING, J.; SCHNITZLER, P.; SUSCHKE, U.; SALLER, R. Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties – an Overview. **Forsch Komplementmed**, v.16, n. 2, p. 79-90. 2009.

RENGASAMY, M.; SHENOY, M. M.; DOGRA, S.; ASOKAN, N.; KHURANA, A.; POOJARY, S.; JAYARAMAN, J.; VALIA, A. R.; SARDANA, K.; KOLALAPUDI, S.; MARFATIA, Y.; RAO, P. N.; BHAT, R. M.; KURA, M.; PANDHI, D.; BARUA, S.; KAUSHAL, V. Indian association of dermatologists, venereologists and leprologists (IADVL) task force against recalcitrant tinea (ITART) consensus on the management of glabrous tinea (INTACT). **Indian Dermatology Online Journal**, v. 11, n. 4, p. 502. 2020.

RIACHY, M.; PRIEGO-CAPOTE, F.; LEÓN, L.; RALLO, L.; LUQUE DE CASTRO, M.D. Hydrophilic antioxidants of virgin olive oil. Part 1: Hydrophilic phenols: A key factor for virgin olive oil quality. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.113, p. 678-691. 2011.

RIBEIRO, P. B.; ALVES, R.; MORAES, C. C.; ROSA, G. S. Avaliação do potencial antimicrobiano do extrato da folha de oliveira para aplicação em biofilmes. Em: VIII SIEPE, 2016, Uruguaiana. **ANAIS DO VIII SIEPE**. 2016.

RIZZO, C.; ARGUMEDO, F. D. Competitividade na indústria olivícola. **Apuntes de Industrias e Servicios**, II, p. 30. 2011.

RODRIGUES, A.M.; DE MELO TEIXEIRA, M.; DE HOOG, G.S.; SCHUBACH, T.M.P.; PEREIRA, S.A.; FERNANDES, G.F.; DE CAMARGO, Z.P. A análise filogenética revela uma alta prevalência de *Sporothrix brasiliensis* em surtos de esporotricose felina. **PLoS doenças tropicais negligenciadas**, v. 7, n. 6, pág. e2281. 2013.

ROIG, A.; CAYUELA, M.L.; SÁNCHEZ-MONEDERO, M.A. Uma visão geral sobre os resíduos do moinho de azeitona e seus métodos de valorização. **Waste Management**, v. 26, p. 960-969. 2006.

RONDANINI, D.P.; CASTRO, D.N.; SEARLES, P.S.; ROUSSEAU, M.C. Fatty acid profiles of varietal virgin olive oils (*Olea europaea* L.) from mature orchards in warm arid valleys of Northwestern Argentina (La Rioja). **Grasas y Aceites**, v. 62, p. 399-409. 2011.

RONDANINI, D. P.; CASTRO, D. N.; SEARLES, P. S.; ROUSSEAU, M. C. Padrões contrastantes de composição de ácidos graxos e acúmulo de óleo durante o crescimento de frutos em várias variedades e locais de azeitona em uma região não mediterrânea. **Revista Europeia de Agronomia**, v. 52, parte B, p. 237-246. 2014.

ROSSI, C.N.; ZANETTE, M.F. Dermatofitose em cães. In: COSTA, M.T.; DAGNONE, A.S. Doenças Infecciosas na Rotina de Cães e Gatos no Brasil. 1ª ed. Curitiba: **Anais do Medvep**, p. 303. 2018.

ROSSOW, J.A.; QUEIROZ-TELLES, F.; CÁCERES, D.H.; CERVEJA, K.D.; JACKSON, B.R.; PEREIRA, J.G.; FERREIRA GREMIÃO, I.D.; PEREIRA, S.A. Uma abordagem One Health no combate ao *Sporothrix brasiliensis*: Revisão narrativa de um fungo patógeno zoonótico emergente na América do Sul. **Journal of Fungi**, v. 6, p. 247. 2020.

SÁ, D. G. C. F.; CAMPOS, R. S.; FARIA-MACHADO, A. F. Aceitação de azeites de oliva da região da Mantiqueira (MG): entendendo consumidor e azeite brasileiros. **Documentos - Embrapa Agroindústria de Alimentos**, n. 138, p. 1-27. 2019.

SAHIN, S.; BILGIN, M.; DRAMUR, M. U. Investigation of oleuropein content in olive leaf extract obtained by supercritical fluid extraction and soxhlet methods. **Separation Science and Technology**, v. 46, n. 11, p. 1829-1837. 2011.

SAHM, D.F.; WASHINGTON II, J.A.. Antibacterial susceptibility tests: dilution methods. IN: BALOWS, A.; HAUSER, W.J.; HERMANN, K.L.; ISENBERG, H.D.; SHAMODY, H.J. **Manual of clinical microbiology**. 5.ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, p. 1105-1116. 1991.

SANCHOTENE, K. O.; BRANDOLT, T. M.; KLAFKE, G. B.; POESTER, V. R.; XAVIER, M. O. In vitro susceptibility of *Sporothrix brasiliensis*: Comparison of yeast and mycelial phases. **Medical Mycology**, v. 55, n. 8, p.869-876. 2017.

SCHLEMMER, Daniela. **Estudo das propriedades de nanocompósitos amido/montmorilonita utilizando óleos vegetais como plastificantes**. 2011. 191 p. Tese (Doutorado em Química) - Universidade de Brasília, Brasília, UnB. 2011.

SCHUBACH, T.M.P.; SCHUBACH, A.O.; BARROS, T.M.B.L.K.; FIGUEIREDO, F.B.; CUZZI, T.; FIALHOMONTEIRO, P.C.; PEREZ, R.S.; WANKE, B. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998–2001). **Journal of the American Veterinary Medical Association**. 224(10), p.1623-1629. 2004.

SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**. Rio de Janeiro: Guanabara, Koogan, p.21- 266. 2004.

SILVA, G. S. Substâncias naturais: uma alternativa para o controle de doenças. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 31, p. 9. 2006.

SILVA, Hildene Meneses. **Caracterização e identificação de leveduras do gênero Candida em pacientes transplantados de medula óssea**. 2011. 53f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

SILVA, M.B.T.; COSTA, M.M.M.; TORRES, C.C.S.; GUTIERREZ-GALHARDO, M.C.; VALLE, A.C.F.; MAGALHÃES, M.A.F.; SABROZA, P.C.; OLIVEIRA, R.M. Esporotricose urbana: epidemia negligenciada no Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 28, p. 1867-80. 2012.

SILVEIRA, E.S.; NOBRE, M.O.; SOUZA, L.L.; FARIA, R.O.; CLEFF, M.B.; MEIRELES, M.C.A. *Trichophyton verrucosum* em bovinos com pele hídica e com lesões. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 31, p. 45-49. 2003.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. D.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 7. ed. Porto Alegre: UFRGS, p. 1104. 2010.

SIVÉN, M.; SAVOLAINEN, S.; RÄNTILÄ, S.; MÄNNIKKÖ, S.; VAINIONPÄÄ, M.; AIRAKSINEN, S.; RAEKALLIO, M.; VAINIO, O.; JUPPO, A.M. Difficulties in administration of oral medication formulations to pet cats: an esurvey of cat owners. **Veterinary Record**, v. 180, n. 10; p. 250-250. 2017.

SOUZA, E.W.; BORBA, C.D.M.; PEREIRA, S.A.; GREMIÃO, I.D.F.; LANGOHR, I.M.; OLIVEIRA, M.M.E.; OLIVEIRA, R.V.C.; CUNHA, C.R.; ZANCOPE-OLIVEIRA, R.M.; MIRANDA, L.H.M.; MENEZES, R.C. Características clínicas, carga fúngica, coinfeções, alterações histológicas da pele e resposta ao tratamento com itraconazol de gatos com esporotricose causada por *Sporothrix brasiliensis*. **Relatórios científicos**, 8 (1), 1-10. 2018.

SPRINGFIELD, E.P.; AMABEOKU, G.; WEITZ, F.; MABUSELA, W.; JOHNSON, Q. An assessment of two *Carpobrotus* species extracts as potential antimicrobial agents. **Phytomedicine**, v. 10, p. 434-439. 2003.

SUDJANA, A. N.; D'ORAZIO, C.; RYAN, V.; RASOOL, N. Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. **International Journal of Antimicrobial Agents**, 33, p. 461-463. 2009.

TAAMALLI, A.; ARRÁEZ-ROMÁN, D.; BARRAJÓN-CATALÁN, E.; RUIZ-TORRES, V.; PÉREZ-SÁNCHEZ, A.; HERRERO, M.; IBÁÑEZ, E.; MICOL, V.; ZARROUK, A.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIERREZ, A. Use of advanced techniques for the extraction of phenolic compounds from Tunisian olive leaves: phenolic composition and cytotoxicity against human breast cancer cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 6, p. 1817-1825. 2012.

TABERA, J.; GUINDA, Á.; RUIZ-RODRÍGUEZ, A.; SEÑORÁNS, F. J.; IBÁÑEZ, E.; ALBI, T.; REGLERO, G. Countercurrent supercritical fluid extraction and fractionation of high-added value compounds from a hexane extract of olive leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 15, p. 4774-4779. 2004.

TALAPKO, J.; JUZBAŠIĆ, M.; MATIJEVIĆ, T.; PUSTIJANAC, E.; BEKIĆ, S.; KOTRIS, I. ŠKRLEC, I. *Candida albicans* - os fatores de virulência e manifestações clínicas da infecção. **Revista dos Fungos**, v. 7, n. 2, pág. 79. 2021.

TALHAOUI, N.; TAAMALLI, A.; GÓMEZ-CARAVACA, A. M.; FERNÁNDEZ-GUTIERREZ, A.; SEGURA-CARRETERO, A. Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. **Food Research International**, v. 77, p. 92-108. 2015.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5ª edição. Porto Alegre: Artmed, 918p. 2013.

TAN, H-W.; TUCK, K. L.; STUPANS, I.; HAYBALL, P. J. Simultaneous determination of oleuropein and hydroxytyrosol in rat plasma using liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of Chromatography B**, v. 785, n. 1, p. 187-191. 2003.

TERAMOTO, J. R. S. Atividade antimicrobiana das folhas de duas variedades de oliveira e a contextualização deste coproduto da produção paulista e mundial de azeite de oliva. **Revista Intellectus**, n. 37, v. 1. 2017.

TERAMOTO, J. R. S.; BERTONCINI, E. I.; PANTANO, A. P. Histórico da introdução da cultura da oliveira no Brasil. **Infobibos-Organização de Eventos Científicos, Cursos e Treinamentos**, 2010. Online. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2010\\_4/HistoricoOliveira/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2010_4/HistoricoOliveira/index.htm)>. Acesso em: 28 jan 2022.

THIELMANN, J.; KOHNEN, S.; HAUSER, C. Antimicrobial activity of *Olea europaea* Linné extracts and their applicability as natural food preservative agentes. **International Journal of Food Microbiology**, v. 251, p. 48-66. 2017.

TORTORA, G. R.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 967. 2012.

TRANter, H.S.; TASSOU, S.C.; NUCHAS, G.J. The effect of the olive phenolic compound, oleuropein, on growth and enterotoxin B production by *Staphylococcus aureus*. **Journal of Applied Bacteriology**, n.74, p. 253–259. 1993.

TRIPOLI, E.; GIAMMANCO, M.; TABACCHI, G.; MAJO, D.; GIAMMANCO, S.; GUARDIA, M. The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. **Nutrition Research Reviews**, v. 18, n. 1, p. 98-112. 2005.

VANDEPUTTE, P.; FERRARI, S.;& COSTE, A. T. Resistência a antifúngicos e novas estratégias para controle de infecções fúngicas. **Revista Internacional de Microbiologia**, 1-26. 2012.

VALLABHANENI, S.; MODY, R. K.; WLAKER, T.; CHILLER, T. The global burden of fungal diseases. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 60, n. 1, p. 1-11. 2016.

VÁSQUEZ-DEL-MERCADO, E.; ARENAS, R.; PADILLA-DESGARENES, C. Journal: Clinics in Dermatology, n. 4, p. 437-443. **Clinics in Dermatology**, (4), 437-443. 2012.

VIANI, F.C. Dermatofitos. In: JERICÓ, M. M.; NETO, J.P.A.; KOGIKA, M.M. **Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Grupo Gen - Editora Roca, p. 2464. 2015.

VILLA, F.; OLIVEIRA, A. F. Origem e expansão da oliveira na América Latina. In: OLIVEIRA, A. F. (Org.). **Oliveira no Brasil: tecnologias de produção**. Belo Horizonte: EPAMIG, cap. 1. p. 21-38. 2012.

VISIOLI, F.; BELOSTA, S.; GALLI, C. Oleuropein, the bitter principle of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages. **Life sciences**, v. 62, n. 6, p. 541-546. 1998.

VISIOLI, F.; POLI, A.; GALL, C. Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. **Medicinal research reviews**, v. 22, n. 1, p. 65-75. 2002.

VOGEL, P.; KASPER MACHADO, I.; GARAVAGLIA, J.; ZANI, V.T.; DE SOUZA, D.; MORELO, S.D.B. Benefícios dos polifenóis da folha de oliveira (*Olea europaea* L.) para a saúde humana. **Nutrição Hospitalaria**, 31(3), p.1427-1433. 2014.

WALLER, S. B.; MADRID, I. M.; FERRAZ, V.; PICOLI, T.; CLEFF, M. B.; FARIA, R. O.; MEIRELES, M. C. A.; MELLO, J. R. B. Cytotoxicity and anti-*Sporothrix brasiliensis* activity of the *Origanum majorana* Linn. Oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 896-901. 2016a.

WALLER, S. B., RIPOLL, M. K., MADRID, I. M., ACUNHA, T., CLEFF, M. B., CHAVES, F. C.; DE MELLO, J. R. B. DE FARIA R. O.; MEIRELES, M. C. A. Susceptibility and resistance of *Sporothrix brasiliensis* to branded and compounded itraconazole formulations. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.1, n. 1, p. 1-8. 2020b.

WEITZMAN, I.; SUMMERBELL, R.C. The dermatophytes. **Review Journal Clinical Microbiology**, 8(2), p. 240-259. 1995.

WHALEY, S.G.; BERKOW, E.L.; RYBAK, J.M.; NISHIMOTO, A.T.; BARKER, K.S.; ROGERS, P.D. Azole Antifungal Resistance in *Candida albicans* and Emerging Non-*albicans Candida* Species. **Front Microbiol.**, v. 7, p. 2173. 2017.

XIE, P.J.; HUANG, L.X.; ZHANG, C.H.; YOU, F.; ZHANG, Y.L. Reduced pressure extraction of oleuropein from olive leaves (*Olea europaea* L.) with ultrasound assistance. **Food and Bioproducts Processing**, v. 93, p. 29-38. 2015.

XYNOS, N.; PAPAEFSTATHIOU, G.; PSYCHIS, M.; ARGYROPOULOU, A.; ALIGIANNIS, N.; SKALTSOUNIS, A.L. Development of a green extraction procedure with super subcritical fluids to procedure extracts enriched in oleuropein from olive leaves. **The Journal of Supercritical Fluids** , v. 67, p. 89-93. 2012.

ZAPATA, N. & SMAGGHE, G. Repellency and toxicity of essential oils from the leaves and bark of *Laurelia sempervirens* and *Drimys winteri* against *Tribolium castaneum*. **Industrial Crops and Products**, vol. 32, n. 3, p. 405-410. 2010.

ZOIDOU, E.; MAGIATIS, P.; MELLIU, E.; CONSTANTINOU, M.; HAROUTOUNIAN, S.; SKALTSOUNIS, A.L. Oleuropeína as a bioactive constituent added in milk and yogurt. **Food Chemistry**, v. 158, p. 319-324. 2014.

ZOMORODIAN, K.; HAGHIGHI, N.N.; RAJAEI, N.; PAKSHIR, K.; TARAZOOIE, B.; VOJDANI, M.; SEDAGHAT, F.; VOSOGHI, M. Assessment of *Candida* species colonization and denture-related stomatitis in complete denture wearers. **Micologia médica** , v. 49, n. 2, pág. 208-211. 2011.