

**Talita Cristina Ferreira (Aluna IC)<sup>1</sup>, Adriana Lopes Schiozer<sup>2</sup>, Lauro E. S. Barata<sup>2</sup>, Luzia Lyra e Angélica Zaninelli Schreiber (Orientador)<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratório de Investigação em Fungos - Depto. de Patologia Clínica- FCM; <sup>2</sup>Instituto de Química UNICAMP

**Faculdade de Ciências Médicas - Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, CEP 13083-970, Campinas, SP, Brasil.**

## INTRODUÇÃO

As dermatofitoses são infecções de tecidos como pele, pelos e unhas, causadas por espécies do gênero *Trichophyton* e *Microsporum*. Em sua grande maioria, as dermatofitoses podem ser tratadas com antifúngicos tópicos. Entretanto, alguns tipos de *tinea*, não respondem bem a este tratamento e requerem o uso exclusivo ou concomitante de antifúngicos sistêmicos para que se obtenha a cura. O crescente relato de falhas dos diferentes protocolos de tratamento leva à busca por novas alternativas terapêuticas, em especial, enfocando produtos naturais. Plantas têm sido usadas como uma fonte valiosa de princípios ativos naturais para a manutenção da saúde humana.

Devido aos seus usos tradicionais, houve interesse em avaliar atividade de extratos da planta *Arrabidaea chica* (Carajiru) sobre o desenvolvimento de dermatófitos. Com base em estudos preliminares, este trabalho tem como objetivos a determinação de suscetibilidade de cepas de *Trichophyton spp* e *Microsporum spp* frente a extratos diclorometano e acetato de etila de folhas *A. chica*. Para essa atividade ser realizada reativamos as cepas, calculamos das diluições dos extratos e realizamos os testes de suscetibilidade com os extratos selecionados. Em um segundo momento foram repetidos os testes para avaliação da reprodutibilidade.

## OBJETIVOS

O objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade biológica de extratos obtidos com os solventes diclorometano e acetato de etila a partir de folhas da planta *A. Chica* frente a cepas de dermatófitos dos gêneros *Trichophyton* e *Microsporum*.

## METODOLOGIA

**Microorganismos:** 31 cepas de dermatófitos sendo 25 cepas de *Trichophyton* e 6 de *Microsporum* provenientes da Micoteca do Setor de Micologia do Laboratório de Microbiologia-DPC-HC-UNICAMP.

**Extratos:** extratos diclorometano (1.2 e 2.2) e acetato de etila (1.3 e 2.3) obtidos de folhas da planta *Arrabidaea chica* em dois procedimentos de extração. Os extratos foram preparados no Laboratório de produtos Naturais do Instituto de Química-UNICAMP.

**Atividade antifúngica:** Foi realizada a técnica de microdiluição em caldo e posteriormente foi determinada a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Fungicida Mínima (CFM menor concentração onde não há crescimento microbiano), sendo todos os testes realizados em duplicata e de acordo com o CLSI M38-A. Foram medidas a CIM 80% (80% de crescimento em relação ao controle positivo) e a CIM 100%, (A menor concentração de um agente antimicrobiano que impede crescimento visível de um microorganismo no teste de sensibilidade por diluição em ágar ou caldo).

A leitura foi realizada com até 168 horas de incubação, a temperatura ambiente. Os testes também foram realizados em dois momentos (a) e (b) com três meses de intervalo entre eles.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas Tabelas 1 e 2 encontramos os resultados obtidos com os extratos 1.2 e 2.2; enquanto nas Tabelas 3 e 4 encontramos os resultados obtidos com os extratos 1.3 e 2.3.

**Tabela 1:** Testes dos extratos 1.2 e 2.2 de Diclorometano frente às cepas de *Trichophyton spp*

CEPAS	Extrato Diclorometano											
	1.2						2.2					
	CIM* 80%		CIM 100%		CFM**		CIM 80%		CIM 100%		CFM	
a	b	a	b	a	b	a	B	a	b	a	b	
LIF-9	≤20	10	200-100	200	1000	1000	≤20	5	200	300	1000	1000
LIF-10	≤20	2,5	200	200	1000	1000	≤20	2,5	200	200	>1000	>1000
LIF-11	50	5	300	200	400	400	50	5	400	300	1000	1000
LIF-12	≤20	10	200	200	1000	1000	≤20	30	300	300	>1000	>1000
LIF-45	≤20	2,5	100	300	>1000	>1000	≤20	2,5	200	300	1000	1000
LIF-47	≤20	5	100	300	1000	1000	≤20	5	200	>300	1000	1000
LIF-142	≤20	5	100	300	1000	1000	≤20	5	200	300	1000	1000
LIF-178	≤20	5	200	200	1000	1000	≤20	5	200	300	1000	1000
LIF-207	100	40	200	300	1000	1000	♦	40	300	>300	1000	1000
LIF-208	♦	30	100	>300	1000	1000	30	20	50	>300	1000	1000
LIF-233	≤20	10	200	300	1000	1000	50	5	200-100	300	1000	1000
LIF-249	≤20	20	200	200	1000	1000	≤20	5	200	200	1000	1000
LIF-280	≤10	10	♦	300	500	500	≤10	5	♦	300	>1000	>1000
LIF-367	≤10	10	♦	200	1000	1000	≤10	20	♦	200	500	500
LIF-371	20-10	100	♦	300	>1000	>1000	20-10	100	300	300	>1000	>1000
LIF-393	≤10	5	♦	>300	>1000	>1000	≤10	10	♦	>300	>1000	>1000
LIF-424	20	50	♦	300	1000	1000	20	100	♦	300	>1000	>1000
LIF-434	30	100	♦	200	1000	1000	30-20	200-100	♦	300	>1000	>1000
LIF-437	≤10	200-100	♦	300	1000	1000	≤10	200	♦	>300	>1000	>1000
LIF-438	***	30	200	300	1000	1000	***	200	300-200	>300	1000	1000
LIF-508	20	20	300	300	400	400	40	100	500	300	1000	1000
LIF-509	20	20	200	300	1000	1000	30	100	300	>300	>1000	>1000
LIF-547	≤10	20	200	300	1000	1000	≤10	10	200	300	500	500
LIF-1158	100	40	200	300	1000	1000	40	200-100	200	300	1000	1000
LIF-1172	20	40	200	200	1000	1000	40	50	200	200	1000	1000
LIF-1321	20	20	200	200	1000	1000	≤10	30	200	200	1000	1000

\* \*\*, CIM e CFM em g/mL; precipitado impediu visualização; \*\*\* poucos conídios; (a)1º avaliação;(b)2º avaliação.

**Tabela 2:** Testes dos extratos 1.2 e 2.2 de Diclorometano frente às cepas de *Microsporum spp*

CEPAS	Extrato Diclorometano											
	1.2						2.2					
	CIM* 80%		CIM 100%		CFM**		CIM 80%		CIM 100%		CFM	
a	b	A	b	a	b	A	b	a	b	a	b	
LIF-64	100-50	200-100	♦	300	>1000	>1000	200	100	♦	300	>1000	>1000
LIF-229	20	20	♦	300	>1000	>1000	100	30	♦	300	>1000	>1000
LIF-343	100-50	100	♦	300	>1000	>1000	300-200	300	♦	>300	>1000	>1000
LIF-412	100	20	♦	300	>1000	>1000	300-200	20	300	>300	>1000	>1000
LIF-463	30	5	200	>300	>1000	>1000	40	2,5	♦	>300	>1000	>1000
LIF-673	200	30	400-300	300	400	400	400-300	40	500-400	300	500	500

\* \*\*, CIM e CFM em g/mL; precipitado impediu visualização; \*\*\* poucos conídios; (a)1º avaliação;(b)2º avaliação.

Na figura 1 podemos observar um teste de microdiluição em caldo com extrato. A coloração, às vezes acentuada, dificultou algumas leituras (tabelas 1 a 4).



**Figura 1:** Exemplo de apresentação do teste de microdiluição em caldo (ug/mL) para leveduras com extrato de *A. chica*.

## CONCLUSÕES

Em linhas gerais podemos relatar que frente ao extrato diclorometano (Lote 1.2), houve reprodutibilidade dos testes a e b para 84,3% das cepas (Tabela 1 e 2). No extrato diclorometano (Lote 2.2), houve reprodutibilidade dos testes a e b para 78,1 % das cepas (Tabela 1 e 2). No entanto, houve uma diminuição dessas porcentagens frente aos extratos acetato de etila tanto no lote 1.3 quanto no lote 2.3. Os valores encontrados para estes foram respectivamente 50% e 43,7%. De acordo com Machado (2009), extratos diclorometano e acetato de etila de *Eugenia umbelliflora* apontaram CIMs entre 200 e 1000 g/mL para todos os dermatófitos utilizados no teste e inibiu algumas espécies com valores de CIMs ≤500g/mL. Esses valores são muito próximos aos encontrados nesse trabalho.

De modo geral, os melhores resultados, ou seja, as menores CIMs foram obtidas nas leituras de 80% de inibição, evidenciando uma característica fungistática das substâncias avaliadas.

## BIBLIOGRAFIA

- CLSI document M38-A2-Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standard- Second Edition, Wayne, 2008.  
MACHADO KE, CECHINEL Filho V, CRUZ RC, MEYRE-SILVA C, CRUZ AB. Antifungal activity of *Eugenia umbelliflora* against dermatophytes. Nat Prod Commun, 4(9):1181-4, 2009.  
Mors WB, Rizzini CT, Pereira NA. Medicinal plants of Brazil. Elsevier, 2000.  
NASCIMENTO SC, CHIAPPETAA, LIMARMO. Antimicrobial and cytotoxic activities in plants from Pernambuco, Brasil. Fitoterapia 61, 353-55, 1990.  
SIDRIN JJC, MOREIRA JLB. - Fundamentos Clínicos e Laboratoriais de Micologia Médica. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1999.