

ATIVIDADE DE EXTRATOS VEGETAIS FRENTE À *Malassezia pachydermatis*

MARCELLE SENHORINHO BATISTA¹; CLAUDIA GIORDANI²; CAROLINE
 BOHNEN DE MATOS³; ROGÉRIO ANTÔNIO FREITAG⁴; MÁRIO CARLOS
 ARAÚJO MEIRELES⁵; MARLETE BRUM CLEFF⁶

¹Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – marcelle.batista@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – claarte@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – bohnencarol@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – rafreitag@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – meireles@ufpel.tche.br

⁶Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – emebrium@bol.com.br

1. INTRODUÇÃO

A partir do final do século XIX, tem havido um incremento nos estudos de atividade terapêutica de plantas medicinais, buscando-se identificação de atividade biológica, além da identificação e modificação de estruturas dos produtos naturais, tendo em vista o aumento na atividade ou seletividade e a redução dos efeitos adversos ou toxicidade (YUNES; CALIXTO, 2001). Além destes fatos, são conhecidas as dificuldades e acesso da população de baixo nível sócio-econômico à assistência médica e farmacêutica, além dos efeitos adversos e alto custo dos medicamentos industrializados. Existe ainda uma tendência estabelecida nos últimos anos, dos consumidores buscarem produtos de origem natural (SIMÕES et al., 1998; MENGUE et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2001; NEWALL et al., 2002).

A *Malassezia pachydermatis* é considerada um habitante natural da microbiota da pele e ouvidos dos cães, e ocasionalmente se instala de forma patogênica e oportunista (PAPICH et al., 2003), sendo essa levedura uma das principais causas de otite em cães encaminhados a clínica veterinária (NASCENTE et al., 2010). Além disso, existem dificuldades referentes a terapêutica desta enfermidade, necessitando um tratamento por tempo prolongado e um grande índice de recidivas, fato que leva a preocupação com a eficácia dos fármacos (NAKANO et al., 2005).

Neste estudo buscou-se avaliar a atividade antifúngica dos extratos de Lanceta, Pitangueira e Rabo-de-lagarto pelo método de difusão em disco frente a isolados clínicos de *M. pachydermatis*.

2. METODOLOGIA

As espécies foram selecionadas através da indicação popular de ação antimicrobiana e também pela alta distribuição das espécies na região, sendo elas, Lanceta, Pitangueira e Rabo-de-lagarto. Estas foram colhidas em Pelotas-RS, sendo uma amostra de cada planta encaminhada ao Setor de Botânica da Universidade Federal de Pelotas para identificação das espécies.

As plantas foram secas em estufa com circulação de ar sob a temperatura de 35°C, no Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) e, embaladas em papel pardo até o momento do preparo do extrato, sendo por fim, trituradas e pesadas em balança de precisão.

Para preparar os extratos vegetais, utilizou-se 100g das folhas de cada planta separadamente e adicionou-se 500 mL de álcool de cereais 70%.

Permanecendo por um período de sete dias em vidro estéril hermeticamente fechado em temperatura ambiente e protegido da luz. Realizou-se agitação manual uma vez ao dia, para favorecer a homogeneização. Após este período, a amostra foi filtrada com gaze estéril e reconstituiu-se o volume inicial com álcool de cereais 70%, resultando em uma tintura, armazenada em frasco âmbar estéril hermeticamente fechado (SCHIEDECK et al., 2008).

Foi utilizado o rotaevaporador à vácuo com banho de aquecimento sob temperatura de 40°C para retirada do solvente (álcool de cereais 70%). Para obtenção do extrato hidroalcoólico e após este procedimento, foi restituído o volume com água destilada estéril. Testou-se os extratos hidroalcoólicos na concentração de 100mg/mL em triplicata.

Os isolados de *M. pachydermatis* utilizados no estudo se encontravam estocados no Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Micologia Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (MicVet-UFPel) e eram provenientes de casos clínicos de otite (n=38) e dermatite (n=10) em cães. O método de avaliação da sensibilidade dos isolados, foi de difusão em disco, documento M44-A2 do CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute, com modificações para fitofármacos e *M. pachydermatis*.

O inóculo fúngico foi preparado a partir de colônias com 24h de crescimento, homogenizada uma alçada da colônia em solução salina estéril e ajustado em espectrofotômetro com comprimento de onda de 320nm e transmitância de 65-70%.

Para o teste de difusão em disco foram semeados, por espalhamento com alça de Drigalski, 100µL do inóculo padronizado, em placas de Petri contendo ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol. Após a secagem do inóculo, foram inseridos os discos de papel filtro estéreis de 5mm e, aplicado sobre estes, 10µL dos diferentes extratos vegetais, em triplicata, sendo incubados a 37°C durante 48h. Também foi utilizada a 10µL, inseridos nos discos, de água destilada estéril como controle negativo. A leitura foi realizada utilizando uma régua para medição do halo de inibição em milímetros (mm). Todos os testes foram realizados em triplicata para cada extrato.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas foram citadas pelo seu nome popular, foram identificadas botanicamente como *Solidago chilensis* (Lanceta), *Eugenia uniflora* (Pitangueira) e *Equisetum hyemale* (Rabo-de-lagarto) pertencentes às famílias Asteraceae, Myrtaceae e Equisetaceae, respectivamente.

No teste de difusão, o extrato com maior halo de inibição foi de pitangueira, já o extrato de lanceta apresentou pouca atividade, e o extrato de rabo-de-lagarto não apresentou halo de inibição em nenhum dos 48 isolados de *M. pachydermatis* testados (Tabela 1).

Tabela 1. Média dos halos de inibição, em milímetros (mm), no teste de difusão em disco dos extratos vegetais (100mg/mL) testados sobre isolados clínicos de *M. pachydermatis*.

Extratos	Halos de inibição (mm)		
	Média	Mínima	Máxima
Lanceta	0,52	0	7
Pitangueira	14,72	7	24
Rabo-de-lagarto	-	0	0

No presente estudo o extrato de pitangueira apresentou halo de inibição frente a *M. pachydermatis* na concentração de 100 mg/mL confirmando sua ação antimicrobiana (BRUM et al.; 2007). Segundo LOPES (2008), essa atividade antimicrobiana é possivelmente justificada devido ao fato dessa planta apresentar fitoconstituintes como antraquinonas, esteróides, heterosídeos saponínicos, taninos; compostos fenólicos (AURICCHIO; BACCHI, 2003), flavonóides, saponinas, terpenos (FIUZA et al., 2008), antocianinas, flavonóides e carotenóides (LIMA et al., 2002).

Na literatura não foram encontrados estudos sobre a ação do extrato hidroalcoólico da pitangueira utilizando teste de difusão em disco sobre *M. pachydermatis*, impedindo comparações. Porém a atividade antimicrobiana foi observada por BEZERRA et al., (2008) ao utilizar o extrato hidroalcoólico da pitangueira em isolados de *S. aureus*, *P. aeruginosa*, assim como resultados encontrados por AURICCHIO et al. (2006) e FIUZA (2009). GONÇALVES et al., (2005) demonstrou em seu estudo a ação contra *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Providencia spp.*, *Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus spp*, porém realizado em método da difusão em Agar.

Os resultados demonstraram forte ação do extrato de pitangueira, quando comparados aos outros dois extratos, mas não se pode afirmar que lanceta e rabo-de-lagarto não tenham atividade em outros microrganismos. AURICCHIO; BACCHI (2003) e LÓPEZ (2010) afirmam que dependendo do momento da colheita, estação do ano, estágio de maturidade antes da colheita, fase de desenvolvimento do vegetal, clima, altitude, tipo de solo, radiação solar e o estresse interferem na produção de compostos químicos, e desta na bioatividade.

4. CONCLUSÕES

O extrato hidroalcoólico das folhas de pitangueira (*Eugenia uniflora*) possui efeito antifúngico frente a isolados clínicos de *M. pachydermatis*. Podendo se caracterizar como alternativa terapêutica em casos de malasseziose posteriormente a outros estudos de eficácia e toxicidade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AURICCHIO, M.T.; BACCHI, E.M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. **Revista Insituto. Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 1, p. 55-61, 2003.
- AURICCHIO, M. T.; BUGNO, A.; BARROS, S.B.M.; BACCHI, E. M. Atividades Antimicrobiana e Antioxidante e Toxicidade de *Eugenia uniflora*. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 1, n. 26, p. 78-81, 2006.
- BEZERRA, N.A.; FELISMINO, D.; CHAVES T.P.; ALENCAR, L.C.B.; DANYAS, I.C.; SOBRINHA, L.C. SOB AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Eugenia uniflora* L1. **Revista de Biologia e FARMACIA**. v. 8, n. 2. 2008.
- BRUM, G.R.; MOSSI, A.J. **Caracterização química e atividade antimicrobiana do óleo volátil de pitanga (*Eugenia uniflora* L.)**. *Perspectiva*, v. 34, n. 127, p. 135-142, 2007.
- FIUZA, T.S. **Bioatividade de extratos e frações das folhas da *Eugenia uniflora* L. e da *Hyptidendron canum* (Pohl ex Benth.) Harley em microrganismos (bactérias e fungo) e em *Oreochromis niloticus* L.** 2009. 39 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) - Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, 2009.

- FIUZA, T.S. et al. Caracterização farmacognóstica das folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae). **Revista eletrônica de Farmácia**, v. 5, n. 2, 2008.
- GONÇALVES, A.L.; FILHO A.A.; MENEZES H. ESTUDO COMPARATIVO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE ALGUMAS ÁRVORES NATIVAS. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.3, p.353-358, 2005.
- LIMA, V.L.A.G; MELO, E.A; LIMA, D.E.S. Fenólicos e carotenóides totais em pitanga. **Scientia Agricola**, v.59, n.3, p.447-450, 2002.
- LOPES, M.M. **Composição química, atividade antibacteriana e alelopática dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora* L. e *Myrciaria glazioviana* (Kiaersk) G.M. Barroso e Sobral (Myrtaceae)**. 2008. 48f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Minas Gerais, 2008.
- LÓPEZ, P.V.A. **Bioprospecção de extratos de *Croton urucurana* Baillon e seus fungos endofíticos**, 2010. 138f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba.
- MENGUE S.S.; MENTZ L.A.; SCHENKEL E.P. Uso de plantas medicinais na gravidez. **Revista Brasileira Farmacognisia**. n. 11, 21-35, 2001.
- NASCENTE, P.DAS.; SANTIN R.; MEINERZ, A.R.M.; MARTINS, A.A.; MEIRELES, M.C.A; MELLO, J.R.B. ESTUDO DA FREQUÊNCIA DE *Malassezia pachydermatis* EM CÃES COM OTITE EXTERNA NO RIO GRANDE DO SUL. **Revista Ciência Animal Brasileira**. v. 11, n. 3, p. 527 – p. 536, 2010.
- NAKANO, Y.; WADA, M.; TANI, H.; SASAI, K.; BABA, E. Effects of β -Thujaplicin on *Malassezia pachydermatis* Remedy for Canine Otitis External. **Journal of Veterinary Medical Science**, Tokio, v.67, n.12, p.1243- 1247, 2005.
- NEWALL, C.A.; ANDERSON L.A.; PHILLIPSON J.D. **Plantas medicinais: Guia profissional de saúde**. São Paulo: Premier, 2002. 300p.
- OLIVEIRA, J.E.Z.; AMARAL, C.L.F; CASALI, V.W.D. **Plantas medicinais e aromáticas: avanços no melhoramento genético**. Viçosa: UFV, Departamento de Fitotecnia, 2001. 155p.
- PAPICH, M.G.; HEIT, M.C.; RIVIERE, J.E. Fármacos Antifúngicos e Antivirais. In: ADAMS, H. R. **Farmacologia e Terapêutica em Veterinária**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. Cap. 46, p.767-790.
- SCHIEDECK, G.; BEVILAQUA, G.A.P.; NACHTIGAL, G.F.; BAUER, M.V.L. **Método de preparo de tintura de plantas bioativas para fins agrícolas. Comunicado técnico-EMBRAPA**, n.190, 2008.
- SIMÕES C.M.O.; MENTZ L.A.; SCHENKEL E.P.; IRGANG B.R.; STEHMANN J.R. **Plantas da Medicina Popular do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Ed. Universidade/ UFRGS, 1998. 174 p.
- YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. **Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal**. Chapecó: Argos, 2001. 524p.