

SAÚ-08

UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS DE VEGETAIS PARA VERIFICAÇÃO DE SUAS CAPACIDADES ANTIFÚNGICAS *IN VITRO* FRENTE A CEPAS DE *Malassezia furfur*.

Vanise Campos Gomes Amaral¹; José Augusto Almendros de Oliveira²; Jeronilson de Almeida Ferreira²

Bolsista CNPq/PIBIC¹; Pesquisador INPA/MICOLOGIA²

A verificação da ação antimicótica de extratos vegetais isoladas de raízes dos gêneros *Zingiber zerumbet* da Família Zingiberaceae e *Brosimus rubescens* da família Moraceae, frente à *Malassezia furfur*, foram realizados em meio líquido (Bile de boi -dextrose - óleo de oliva), em diluições de 1:10 , 1:100 , 1:1000 , 1:10.000 a partir de soluções em concentrações que variam de 10 a 50 mg/ml contendo os extratos das plantas selecionados. Os testes realizados para verificar a viabilidade efetiva dos extratos foram negativos, mostrando atividade do microorganismo quando reinoculados em meio sem os extratos vegetais.

A Pitiríase versicolor é uma micose crônica, superficial, oligoassintomática, caracterizada por lesões máculo-escamosas que podem ser evidenciadas pelo estiramento da pele (sinal de Ziller). A cor das lesões é variável apresentando-se hipocrômicas, hiperocrômicas e até eritematosas. Atribuem-se as alterações de pigmentação à inibição secundária da tirosinase pelos ácidos dicarboxílicos produzidos pela ação de enzimas dos microorganismos⁽³⁾. As máculas geralmente são múltiplas, com formas variáveis, e podem coalescer formando grandes placas. As áreas envolvidas geralmente são: o terço superior do tronco, a raiz dos membros superiores, o pescoço e o couro cabeludo, podendo encontrar lesões em qualquer área da pele exceto palma das mãos e planta dos pés⁽¹⁾. A pitiríase versicolor é uma doença cosmopolita, mais comum nos climas quentes e úmidos, compromete homens e mulheres, sendo menos freqüente nas crianças e nos idosos⁽⁴⁾. O agente etiológico é *Malassezia furfur*, fungo dimórfico, lipofílico com blastoconídeos semelhantes à *Candida*, e que se apresentam sob a forma esférica, oval e em garrafa (bottle shaped).

O objetivo deste trabalho foi determinar a CIM (concentração inibitória mínima) dos extratos vegetais frente a *Malassezia furfur*.

O material constou de extratos isolados de raízes do gênero *Zingiber zerumbet* da Família Zingiberaceae e *Brosimus rubescens* da família Moraceae, em concentrações que variaram de 10 a 50 mg/ml dissolvidos em dimetilsulfóxido (DMSO), denominados de solução A. Os extratos foram preparados no laboratório de Testes farmacológicos da

Coordenação de Pesquisa em Produtos Naturais (CPPN), do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

Foram selecionados um total de 50 pacientes com diagnóstico clínico positivo para Pitiríase versicolor no Instituto de Dermatologia Tropical e Venereologia Alfredo da Matta (IDTVAM) e no Laboratório de Micologia Médica do INPA, onde foram coletadas as amostras de escamas epidérmicas para exame direto com KOH (hidróxido de potássio), a 30%. Parte do material foi inoculado em meio Sabourand + bile de boi a 3% e óleo de oliva a 0,5% ⁽²⁾. As culturas foram mantidas em temperatura ambiente.

Para o preparo do inóculo foram utilizadas colônias de crescimento recente (72 horas). Preparou-se uma suspensão da porção superficial das colônias em água destilada estéril; procedeu-se a contagem dos conídeos com auxílio de uma câmara de Neubauer e microscópio óptico, que continha entre 10 a 20 x 10⁶ UFC/ml (Unidade Formadora de Colônia). O procedimento para o preparo do inóculo constitui-se de uma diluição da levedura em estudo utilizando 4 ml de água destilada estéril. Esta foi colocada em uma câmara de Neubauer e levada ao microscópio para contagem das células. Foi considerada a solução ideal, a que continha em torno de 80 a 100 células por campo.

O inóculo foi semeado em cada tubo das séries de diluições contendo as concentrações de 1:10, 1:100, 1:1000 e 1:10.000, com auxílio de micropipetador calibrado de 200µl.

Controle do meio de cultivo: um tubo de ensaio contendo o meio de cultura utilizado no teste isento do extrato, onde não foi realizada a semeadura do inóculo.

Controle do inóculo: um tubo de ensaio contendo o meio de cultura utilizado no teste isento do extrato e inoculado com a porção do inóculo padronizado para o experimento.

Controle do solvente: consistiu-se de um tubo com o meio de cultivo utilizado nos experimentos, acrescido da quantidade de DMSO (dimetilsulfóxido) correspondente a maior concentração do extrato empregado nos testes.

A leitura de cada série dos experimentos foi realizada no espaço de tempo entre 48 a 72 horas após a data de inoculação conforme o crescimento nos tubos com extratos ou quando houvesse crescimento visível no tubo controle do inóculo.

Considerou-se com CIM, o valor correspondente a última concentração do extrato sob as condições padronizadas, que inibiram o crescimento do fungo. A leitura do crescimento foi considerada positiva para os tubos em que se observou crescimento visível à vista desarmada e resultado negativo, quando não se observou o crescimento do fungo.

Foram selecionados um total de 50 pacientes, atendidos no Instituto Alfredo da Mata, com diagnóstico clínico para Pitiríase Versicolor, sendo confirmado através de exame direto

com KOH a 30%, no laboratório de micologia médica do INPA. O solvente DMSO proporcionou um resultado satisfatório por não interferir no crescimento do fungo, em divergência com os resultados obtidos quando da utilização do Tween 80 e Etanol; sendo, portanto, considerado o solvente ideal para a dissolução. Das 50 cepas isoladas, 30 foram submetidas a ensaios biológicos usando extratos de vegetais dissolvidos em DMSO, em concentrações que variaram de 10 a 50 mg/ml. Como resultado observou-se que os extratos ensaiados mostraram inatividade frente a *Malassezia furfur*, pois houve crescimento do fungo quando realizou-se o ensaio biológico com extratos vegetais, sendo possível observar o crescimento à vista desarmada e quando reinoculados no meio específico. Os resultados supramencionados nos permitem afirmar que é fundamental a busca de novos conhecimentos atinentes a uma terapêutica otimizada que permita solucionar a preço e tempo reduzidos a patologia em estudo.

Dos extratos testados em concentrações que variaram de 10 a 50 mg/ml, observou-se que não apresentaram ação inibitória frente ao fungo causador da Pitiríase Versicolor. Deve-se levar em consideração que os extratos testados representam uma pequena amostra frente a riqueza de materiais dessa natureza, existentes na Amazônia. Daí a imperiosa necessidade do prosseguimento da pesquisa, com a ampliação dos extratos e das cepas fúngicas.

1. Faegermann, J.; Fredrkssont.. 1982. Some news aspects on etiology, pathogenesis, and tratament of tinea versicolor. *Int. Dermatol.* 21(1): 8-11.
2. Lacaz, C.S.; Porto, E.; Martins, E.C. 1984. *Micologia Médica*. Ed.Sarvier, 7 ed. São Paulo. Brasil. 474p.
3. Mcdaniel, D.H.; William, A.W.1984. Scanning electron microscopic valuation of tinea versicolor. *Arch Dermatol* 120(8): 1057.
4. Rook , A.;Wilkinson, D.S.; Ebling, F.J.G. 1989. *Text book of Dermatology*. OXFORD JB, Blackwell Scientific publications, ed. 3,1979,835-8 p.