

Atividade *in vitro* de *Psychotria prunifolia* sobre dermatófitos

LUCENA, Percília de Andrade; **SILVA**, Maria do Rosário Rodrigues; **SANTOS**, Davi dos Reis; **NEVES**, Flávia de Assunção, **SOUZA**, Genebaldo Firmiano, **KATO**, Lucília

Palavras-chave: dermatófitos, suscetibilidade, *Psychotria prunifolia*

1. INTRODUÇÃO

Dermatofitoses são infecções causadas por fungos denominados dermatófitos, que envolvem as camadas superficiais da pele, pêlo e unhas. Os dermatófitos, são capazes de utilizar a queratina existente nestes locais produzindo lesões que variam de brandas a graves.(FERNANDES et al., 2001; LIU et al., 2002) Os dermatófitos são constituídos por 3 gêneros: *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidemophyton*, pertencentes à família *Moniliaceae*, classe *Hyphomycetese* e subfilo *Deuteromycota* (WEITZMAN e SUMMERBELL, 1995) sendo que cada gênero possui várias espécies que são potencialmente patogênicas para os animais. Para o tratamento dessas infecções pode ser utilizado antifúngicos tópicos ou sistêmicos, sendo que os medicamentos de via oral como os derivados azólicos: cetoconazol, econazol e miconazol são os mais eficazes, tais fungicidas podem ser aplicados diariamente permanecendo por períodos prolongados na superfície da pele(WEINSTEIN e BERMAN, 2002) Estes fármacos, entretanto podem apresentar efeitos adversos como alterações gastrintestinais e cefaléia. Desta forma a busca de novas substâncias que possam atuar como antifúngico é de extrema necessidade. Novas moléculas que apresentem bom poder fungicida e menos efeitos colaterais, têm sido encontradas em vegetais. A *Psychotria prunifolia* tem sido estudada e pode representar uma nova estratégia para sair dos meios convencionais de tratamento. Esta planta pertence ao grupo das dicotiledôneas, da família *rubiaceae*, natural do cerrado e rica em alcalóides e iridóides, estes com atividade terapêutica já previamente comprovadas. Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo a determinação da atividade *in vitro* de extrato etanólico bruto das folhas de *Psychotria prunifolia* sobre dermatófitos

2. METODOLOGIA

2.1 Amostragem

Foram utilizados 30 isolados de dermatófitos, sendo 10 de *Trichophyton rubrum*, 10 de *Trichophyton mentagrophytes* e 10 de *Microsporum canis*.

2.2- Preparação do Extrato

O extrato chegou na concentração de 26.200µg, a partir dessa, foi então dissolvido em dimetilssulfóxido para a concentração de 2048µg para a formação de soluções estoques armazenadas a -20°C antes do uso.

2.3- Microdiluição em caldo

A técnica foi realizada seguindo o documento M38-A proposto pelo CLSI (2002) com algumas modificações. Para controle usou-se *Candida parapsilosis* ATCC 22019.

2.4- Inóculo

Os dermatófitos foram subcultivados em tubos contendo ágar batata dextrose durante 4 a 5 dias a 28°C, aos quais foram adicionadas 10mL de salina estéril (0,85%) com tween80. A suspensão contendo conídios e hifas foi transferida para um tubo estéril e deixada em repouso por 10 a 15 minutos para sedimentação das partículas pesadas assim, foram ajustadas igualando-se com a escala Mc Farland de nº1, que equivale a aproximadamente 0,6 a 1,4X 10⁶cels/mL. Em seguida, as suspensões foram diluídas em caldo RPMI 1640 de tal modo que se obtivesse uma concentração final de 0,4 a 5X 10⁴cels/mL.

2.5- Procedimento do teste

Foram utilizadas placas de microdiluição contendo 96 poços, nos quais o extrato de *Psychotria prunifolia* foi diluído para uma concentração de 2048µg/mL. A cada poço, contendo 100µL do agente antifúngico, foram adicionadas alíquotas de 100µL do inoculo, de tal modo que a concentração do extrato ficou diluída ao dobro. As concentrações do extrato da planta variaram de 1024 a 1 µg/ml. Houve ainda um controle do agente antifúngico e do inóculo.

2.6- Incubação e leitura do teste

As placas de microdiluição foram incubadas a 28°C durante quatro a cinco dias para a leitura da CIM.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato foi capaz de inibir cerca de 50% dos isolados testados em concentrações ≤256µg/mL. Os resultados observados no estudo demonstraram uma razoável atividade da *Psychotria prunifolia* sobre os dermatófitos Apesar do CLSI ter publicado um documento para testar fungos filamentosos (CLSI 2002) não foi estabelecido nenhum método para que teste a suscetibilidade dos dermatófitos. Alguns parâmetros como temperatura e tempo de incubação são de difícil determinação em suscetibilidade *in vitro* para os dermatófitos (Jessup et al. 200; Alió et al. 2005). De acordo com o CLSI a temperatura de incubação estabelecida para fungos filamentosos foi de 35°C, nos usamos a de 28°C. Em experimentos preliminares realizados em nosso laboratório os dermatófitos obtiveram melhor crescimento em 28°C do que em 35°C. Concordando com Pujol et al. 2002 que mostrou que na temperatura de 28°C as CIMs são mais reprodutíveis e o crescimento dos fungos são mais característicos. No presente trabalho as CIMs foram determinadas após quatro a cinco dias, nossos resultados foram similares ao Ghannoum et al. 2004, que incubou os dermatófitos por quatro dias.

4. CONCLUSÃO

As análises realizadas no presente estudo permitem concluir que existe uma razoável atividade antifúngica *in vitro* do extrato etanólico bruto das folhas de *Psychotria prunifolia* sobre os dermatófitos porém, fica necessário mais estudos que comprovem esses valores, provavelmente partindo de testes *in vivo*.

5.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALIÓ, A. B.; MENDONÇA, S. M.; ZAMBRANO, E. A.; DÍAZ, E.; CAVALLERA, E. Dermatophytes growth curve and *in vitro* susceptibility test: a broth micro-titration method. *Medical Mycology*. v.43, p. 319-325, 2005.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous fungi; Approved Standard. CLSI document M38-A, 2002.

FERNADES, N. C.; AKITI, T.; BARREIROS, M. G. C. Dermatophytoses in children: study of 137 cases. *Rev Inst med Trop S. Paulo* v.43, p. 83-85, 2001.

GHANNOUM, M. A.; CHATURVEDI, V.; ESPINEL-INGROFF, A.; PFALLER, M. A.; RINALDI, M. G.; LEE-YANG, W.; WARNOCK, W. Intra and interlaboratory study of a

method for testing the antifungal susceptibilities of dermatophytes. *Journal of Clinical Microbiology*. v.42, p. 2977-2979, 2004.

JESSUP, C. J.; WARNER, J.; ISHAM, N.; HASAN, I.; GHANNOUM, A. Antifungal susceptibility testing of dermatophytes: establishing a medium for inducing conidial growth and evaluation of susceptibility of clinical isolates. *Journal of Clinical Microbiology*. v. 38, p. 341-344, 2000.

LIU, D.; PEARCE, L.; LILLEY, G.; COLOE, S.; BAIRD, R.; PEDRESEN, J. PCR identification of dermatophyte fungi *Trichophyton rubrum*, *T soudanense* and *T gourvilli*. *Journal of Medical Microbiology*. v. 51, p. 117-122, 2002.

PUJOL, I.; CAPILLA, J.; FERNÁNDEZ-TORRES, B.; ORTOPEDA, M.; GUARRO, J. Use of the sensititre colorimetric microdilution panel antifungal susceptibility testing of dermatophytes. *Journal of Clinical Microbiology*. v. 40, p. 2618-2621, 2002.

WEINSTEIN, A.; BERMAN, B.. Tropical treatment of common superficial tinea infection. *American Family Physician*. v. 65, p. 2095-2102, 2002.

WEINTZMAN, I.; SUMMERBELL, R.C. The dermatophytes. *Clinical Microbiology Reviews*. v. 8, p. 240-259, 1995.