

## ARTÍCULO ORIGINAL

**Utilização de extratos de plantas medicinais e óleo de *Eucalyptus* no controle *in vitro* de *Microsporium canis*****Use of extracts of medicinal plants and oil of *Eucalyptus* in the control *in vitro* of *Microsporium canis*****Danila Fernanda Rodrigues Frias,<sup>I</sup> Dora Inês Kozusny-Andreani<sup>II</sup>**

<sup>I</sup>Doutorado em Medicina Veterinária. Medicina Veterinária Preventiva. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal/SP/Brasil. São Paulo, Brasil.

<sup>II</sup>Professora Adjunta de Microbiologia Veterinária. Laboratório de Microbiologia. Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Camilo Castelo Branco (UNICASTELO), Fernandópolis/SP/Brasil. São Paulo, Brasil.

**RESUMO**

**INTRODUÇÃO:** *Microsporium canis* é o causador mais comum de dermatofitose canina e felina apresentando assim um importante papel zoonótico.

**OBJETIVOS:** o presente estudo teve como objetivo determinar a ação antifúngica de extratos de plantas medicinais e óleo de eucalipto frente ao fungo patogênico *Microsporium canis*.

**MÉTODOS:** os extratos brutos foram preparados utilizando-se 300 g de folhas, previamente lavadas e 450 mL de água deionizada. O material vegetal foi misturado, triturado, coado e filtrado e em seguida, esterilizados e conservados a  $10 \pm 2$  °C. Depois de esterilizado, o meio Sabouraud dextrose (Difco) atingiu a temperatura de  $55 \pm 1$  °C. Foram adicionados 15 mL em placas de Petri contendo os extratos em concentrações que correspondiam a um, dois, três, quatro e cinco ml. Uma vez solidificado o meio, o fungo foi inoculado. As placas inoculadas foram mantidas em incubadora B.O.D. a temperatura de  $36 \pm 0,5$  °C até o desenvolvimento do fungo na placa de controle.

**RESULTADOS:** os extratos de romã, manga e eucalipto diminuíram o crescimento do fungo, mas os de citronela, cravo de defunto, arruda, tiririca, graviola e folhas e flores de calêndula, promoveram o desenvolvimento do fungo. O restante dos extratos e o óleo de eucalipto, não apresentaram ação fungicida nem promoveram o crescimento micelial.

**CONCLUSÕES:** a maioria dos extratos testados e o óleo de eucalipto não apresentam efeito inibitório no desenvolvimento de *Microsporium canis* tornando inutilizável o uso destes fitoterápicos no controle deste fungo; enquanto que os

extratos de citronela, cravo de defunto, arruda, tiririca, graviola e de folhas e flores de calêndula induziram o desenvolvimento do fungo, mostrando que a utilização de fitoterápicos deve ser realizada de uma maneira correta pois em caso contrário podese agravar o problema. Os extratos de manga, romã e eucalipto podem ser usados como substâncias fungistáticas no controle de *M. canis*.

**Palavras-chave:** *Microsporium canis*, plantas medicinais, fungistáticos, dermatófito.

---

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** *Microsporium canis* is the most common cause of canine and feline dermatophytosis and thus has an important zoonotic role.

**OBJECTIVES:** the aim of this study was to determine the antifungal action of medicinal plant extracts and of eucalyptus oil against pathogenic fungus *Microsporium canis*.

**METHODS:** the extracts were prepared by mixing 300 g of previously washed leaves with 450 mL of distilled water. Then the material was triturated, filtered, sterilized and conserved at  $10 \pm 2$  °C. Fifteen milliliters of sterilized medium Sabouraud dextrose (Difco) at a temperature of  $55 \pm 1$  °C was added in Petri dishes containing the extracts in one, two, three, four and five mm concentrations. The fungus was inoculated once the medium was solidified. The inoculated dishes were maintained in B.O.D. incubator at  $36 \pm 0,5$  °C until the fungus developed in the controls.

**RESULTS:** the extracts from *Punica granatum*, *Mangifera indica* and *Eucalyptus* spp reduced the growth of fungus, but the extracts from *Cymbopogon nardus*, *Tagetes minuta*, *Ruta graveolens*, *Cyperus rotundus*, *Annona moricata* and *Calendula* spp leaves and flowers boosted the growth of fungus. The other extracts and the eucalyptus oil neither show any fungicidal action nor encourage mycelium growth.

**CONCLUSIONS:** the use of most tested extracts and eucalyptus oil is not suitable for the treatment of *Microsporium canis* dermatophytosis due to lack of inhibitory effects. The extracts from *Cymbopogon nardus*, *Tagetes minuta*, *Ruta graveolens*, *Cyperus rotundus*, *Annona moricata* and from of *Calendula* spp leaves and flowers help the development of the fungus making clear that phytotherapy should be properly used, otherwise it can worsen the problem. However; extracts from *Mangifera indica*, *Punica granatum* and *Eucalyptus* spp. can be used as fungistatic.

**Key words:** *Microsporium canis*, medicinal plants, fungistatic, dermatophyte.

---

## INTRODUÇÃO

Os dermatófitos são fungos que apresentam hifas septadas e que existem no mundo todo, sendo reconhecidas mais de trinta espécies. Muitas pertencem aos *Fungi Imperfecti* e são classificados em três gêneros: *Microsporium*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*.<sup>1-3</sup> O *Trichophyton* pode infectar os pêlos, a pele ou as unhas; o *Microsporium* usualmente envolve unicamente pêlos ou pele; o *Epidermophyton* afeta somente pele e unhas.<sup>3</sup> O meio tradicional para a propagação de dermatófitos é o ágar Sabouraud com dextrose.<sup>4-6</sup>

A dermatofitose é uma doença de caráter contagioso causada por um grupo homogêneo de fungos patogênicos chamados dermatófitos, os quais apresentam marcada afinidade pela queratina afetando, portanto, pêlos, unhas, cascos, penas e células queratinizadas da pele. A dermatofitose é, comparativamente, uma condição clínica comum tanto em animais de companhia como em animais de criação.<sup>2,3,5</sup>

As dermatofitoses podem ser transmitidas de animal para animal, de animal para seres humanos, ou do solo para os animais e para os seres humanos.<sup>1</sup> Em levantamentos realizados sobre dermatofitose humana, o *M.canis* está presente como um dos agentes mais prevalentes, variando de 25,6 a 32,12 %.<sup>7</sup> A maioria das infecções humanas são causadas por *Microsporium canis*, contraído de gatos infectados.<sup>8,9</sup>

Como as dermatofitoses são zoonoses, o tratamento e o controle são particularmente importantes em carnívoros domésticos. O tratamento das infecções por dermatófitos deve ser direcionado para a erradicação do material infeccioso dos animais infectados, dos portadores e do ambiente. Para tal finalidade, ficam indicados cortes dos pêlos, isolamento apropriado, medidas sanitárias, terapia tópica e administração sistêmica de medicamentos fungicidas ou fungistáticos.<sup>2</sup>

Comumente são utilizados para o tratamento de dermatofitose a griseofulvina e derivados imidazólicos; porém, estudos têm demonstrado que para o controle de algumas espécies de dermatófitos é necessária a utilização de concentrações relativamente altas de determinados fungicidas.<sup>2,5</sup>

Uma alternativa para o controle de microrganismos patogênicos seria a utilização de extratos brutos ou óleos essenciais de plantas medicinais. Esta seria uma forma de controle através da utilização dos metabólitos secundários produzidos pelas plantas. Esta tecnologia está sendo utilizada com êxito no controle de insetos, pragas e algumas doenças.<sup>10,11</sup>

Na atualidade, muitas instituições têm se empenhado na utilização de tratamentos alternativos para o controle de diferentes agentes etiológicos de doenças. O tratamento à base de plantas medicinais, ou fitoterapia, está ganhando força inédita no Brasil. Por este motivo, o presente trabalho tem como objetivo determinar a ação antifúngica de extratos e óleo de plantas medicinais frente ao fungo patogênico *Microsporium canis* (dermatófito), visando à utilização da fitoterapia para o controle do mesmo.

## MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Microbiologia, da Universidade Camilo Castelo Branco, Campus VII, Fernandópolis, SP.

Para a determinação da atividade antifúngica de diferentes extratos de plantas foi utilizado *Microsporium canis*. Este fungo foi escolhido pois é o dermatófito responsável pela maioria dos casos de dermatofitoses, tanto em animais como em seres humanos.

O material vegetal utilizado foi obtido da coleção de plantas medicinais da Faculdade de Ciências Agrárias, UNICASTELO, Campus Fernandópolis. A identificação botânica das plantas foi realizada pelo Herbário do Curso de

Agronomia, onde foram depositadas, recebendo os respectivos voucher. Para o preparo do extrato bruto foram utilizadas folhas de arruda (*Ruta graveolens*, UCCB 788), citronela (*Cymbopogon nardus*, UCCB 830), tiririca (*Cyperus rotundus*, UCCB 831), cravo de defunto (*Tagetes minuta*, UCCB 825), eucalipto (*Eucalyptus* spp UCCB 820), graviola (*Annona muricata*, UCCB 819), fruta do conde (*Annona* spp UCCB 821), manga (*Mangifera indica* UCCB 710), romã (*Punica granatum* UCCB 857), folhas e flores de calêndula (*Calendula* spp UCCB 823), e flores e folhas de primavera (*Bougainvillea glabra*, UCCB 823).

Os extratos brutos foram preparados utilizando-se 300 g de folhas frescas, previamente lavadas, e 450 mL de água deionizada. O material vegetal foi misturado e triturado em liquidificador, esta mistura foi posteriormente coada e filtrada, e em seguida, os extratos foram esterilizados em autoclave por 15 minutos, a uma atmosfera de pressão. Os extratos brutos foram conservados a  $10 \pm 2$  °C.

Para a determinação da atividade antifúngica de extratos de plantas e óleo de eucalipto foi utilizado um meio Sabouraud dextrose (Difco), preparado de acordo com as instruções do fabricante. O meio de cultura foi esterilizado em autoclave por 20 min a uma temperatura de 120 °C e uma atmosfera de pressão. O meio foi retirado da autoclave e colocado 15 mL em placas de Petri também estéreis e quando o mesmo atingiu a temperatura de  $55 \pm 1$  °C, foram adicionados os extratos em concentrações crescentes que correspondiam a um, 2, 3, 4 e 5 mL.

Uma vez solidificado, o meio foi inoculado com o fungo. Como controle foram utilizadas placas de Petri contendo um meio Sabouraud sem adição do extrato onde foi realizada a inoculação com o fungo. As placas foram mantidas em incubadora B.O.D. a temperatura de  $36 \pm 0,5$  °C até o desenvolvimento das colônias na placa de controle, sem adição do extrato. A atividade antifúngica foi avaliada diariamente, através do desenvolvimento do fungo nas placas de controle em nos diferentes tratamentos.

## RESULTADOS

Os resultados obtidos do cultivo de *M. canis*, em meio de cultivo Sabouraud suplementado com doses crescentes de extratos brutos de plantas, foram diferentes para cada extrato. A utilização de 1,0 mL de extratos de arruda, cravo de defunto, citronela, graviola, tiririca e flores e folhas de calêndula, adicionados ao meio de cultura, induziram o desenvolvimento do *M. canis*. Observou-se que o crescimento miceliar foi superior ao cultivo do fungo em meio sem adição de extrato (controle). Verificou-se que as características das colônias e das estruturas fúngicas não sofreram alterações quando os fungos foram cultivados sob estas condições. Estas plantas provavelmente possuam substâncias indutoras do crescimento fúngico.

Os extratos de fruta do conde, folhas e flores de primavera e o óleo de eucalipto não apresentaram atividade antifúngica em *M. canis* nas concentrações testadas. Os extratos brutos de manga (5 mL), eucalipto (2 mL) e romã (8 mL) apresentaram inibição do crescimento do *Microsporium canis*, porém, esta inibição não foi total, caracterizando assim uma ação fungistática.

## DISCUSSÃO

A importância dos animais, principalmente cães e gatos, na transmissão de *Microsporium canis* para homem deve ser levada em consideração no que se refere a manipulação destes animais.<sup>8,9</sup> Como as dermatofitoses são zoonoses, o tratamento e o controle são particularmente importantes em animais domésticos.<sup>2</sup>

Uma alternativa para o controle de microrganismos patogênicos seria a utilização de extratos brutos ou óleos essenciais de plantas medicinais. Esta seria uma forma de controle eficiente e menos agressiva para o hospedeiro, já que na terapia com fungicidas é necessária a utilização de concentrações relativamente altas, o qual pode ter um efeito tóxico para o hospedeiro.<sup>2,5,10,11</sup>

Algumas espécies de plantas da floresta tropical possuem propriedades terapêuticas, razão pela qual, estudos tem sido realizados para verificar a atividade antifúngica destes vegetais. Os extratos de plantas de *Coyza aegyptiaca* apresentam propriedades fungicidas e fungistáticas sobre *M. canis*, *M. gypseum*, *T. mentagrophytes* e *Candida*. Determinações fitoquímicas mostraram que estas plantas são ricas em taninos e flavonoides, responsáveis pela atividade antifúngica.<sup>12</sup> Outra pesquisa demonstrou que extratos de citronela, eucalipto e romã atuaram como fungistáticos sobre *T. mentagrophytes*.<sup>13</sup> Neste estudo, os extratos brutos de manga, eucalipto e romã apresentaram inibição parcial do crescimento do *Microsporium canis*, podendo ser utilizados como fungistáticos. Os extratos de fruta do conde e folhas de primavera não apresentaram nenhum tipo de atividade antifúngica, enquanto os extratos de arruda, cravo de defunto, citronela, graviola, tiririca e flores e folhas de calêndula quando adicionados ao meio de cultura, induziram o desenvolvimento do fungo, razão pela qual não poderiam ser utilizados na tentativa de controle deste dermatófito.

A atividade antifúngica dos óleos essenciais também está sendo bastante utilizada para o controle de dermatófitos e fungos sapróbios.<sup>14</sup> Óleos essenciais extraídos de limão e citronela, e de alguns componentes dos óleos essenciais citral, geraniol, citronelol e citronelal foram testados em *Cândida albicans*, *Microsporium gypseum*, *Sporothrix schenckii* e *Aspergillus niger*. O óleo de limão apresentou alta atividade antifúngica para todos os organismos testados, o óleo de citronela foi eficiente para *Microsporium gypseum*.<sup>15</sup> A utilização de 0,5 % de óleo essencial de eucalipto foi eficaz no controle *in vitro* de *T. mentagrophytes*.<sup>13</sup> Neste estudo, o óleo essencial de eucalipto utilizado não surtiu nenhum tipo de efeito contra *Microsporium canis*.

A tendência dos últimos anos é a utilização de fitoterápicos no controle e tratamento de microrganismos patogênicos; porém, ainda não é uma prática adotada rotineiramente na medicina veterinária.

## AGRADECIMENTOS

Luciano Ricardo de Oliveira, auxílio na coleta das plantas e fabricação dos extratos.

## REFERÊNCIAS

1. Minami PS. Micologia: Métodos laboratoriais de diagnósticos das micoses. São Paulo: Manole; 2003. p. 199.

2. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnely WJ, Leonard FC. Microbiologia veterinária e doenças infecciosas. Porto Alegre: Artmed; 2005. p. 512.
3. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Microbiologia. Porto Alegre: Artmed, 2002:827.
4. De La Maza LM, Pezzlo MT, Baron EJ. Atlas de diagnóstico em microbiologia. Porto Alegre: Artmed; 1999. p. 216.
5. Hirsh DC, Zee YC. Microbiologia Veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003. p. 446.
6. Nobre MO, Meireles MCA, Cordeiro JMC. Importância do felino doméstico na epidemiologia da dermatofitose por *Microsporium canis*. Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia de Uruguaiana. 2001;7/8(1):81-4.
7. Londero AT, Benavenga PP. Human infections by *Microsporium nanum* in Brasil. Revista do Instituto de Medicina Tropical. 1972;14:388-94.
8. Costa EO, Diniz LSM, Benites NR, Coutinho SD, Carvalho VM, Dutra LF, et al. Surtos interespecíficos por *Microsporium canis* e *Microsporium gypseum*. Revista de Saúde Pública. 1994;8(5):337-40.
9. Pepin GA, Oxenham M. Zoonotic dermatophytosis (ringworm). Veterinary Record. 1986;118:110-1.
10. Govindachari TR, Suresh G, Gopalakrishnan G, Wesley SD. Insect antifeedant and growth regulating activities of neem seed oil - the role of major tetranortriterpenoids. J Applied Entomology. 2000;124(7):287-91.
11. Tewari SN, Dath P. Effect of leaf extract media of some plants on the growth of three fungal pathogens of rice. Indian Phytopathology. 1984;37(3):458-61.
12. Batawila K, Kokou K, Akpagana K, Koumaglo K, Bouchet P. Activite antifongique d'une espece en voie de disprition de la flore togolaise: *Conysa aegyptiaca* (L) Ait. Var. Linearloba (DC.) O. Hoffm. (Asteraceae). Acta Botanica Gallica. 2002;149(1):41-8.
13. Frias DFR, Kozusny-Andreani DI. Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica de extratos de plantas e óleo de eucalipto sobre *Trichophyton mentagrophytes*. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. 2009;11(2):216-20.
14. Dáuria FD, Laino L, Strppoli V, Salvatore G, Battinelli L, Mazzanti G. In vitro activity of tea tree oil against *Candida albicans* mycelial conversion and other pathogenic fungi. J Chemotherapy. 2001;13(4):377-83.
15. Dharmendra S, Khanuja SPS, Kahol AP, Gupta SC, Sushil K. Comparative antifungal activity of essential oils and contituents from three distinst genotypes of *Cymbopogon* spp. Current-Science. 2001;80(10):1264-6.

Recibido: 23 de septiembre de 2009.  
Aprobado: 7 de junio de 2010.

Dra. *Danila Fernanda Rodrigues Frias*. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, S/N, CEP: 14884-900, Jaboticabal, São Paulo. Fone/Fax: (00xx5516) 3209 2646. E-mail: [danilafrias@yahoo.com.br](mailto:danilafrias@yahoo.com.br)