

OSWALDO HENRIQUE BAROLLI REIS

AÇÃO ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Rosa alba* L.

Alfenas - MG

2011

OSWALDO HENRIQUE BAROLLI REIS

AÇÃO ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Rosa alba* L.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS, como parte das exigências para conclusão do Curso de Pós-Graduação *Stricto Sensu* e obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Adélia Pereira
Miranda.

Alfenas - MG

2011

Reis, Oswaldo Henrique Barolli

Ação antifúngica do óleo essencial de *Rosa alba* L.
/.--Oswaldo Henrique Barolli Reis.-- Alfenas : Unifenas,
2011.

70 f.

Orientadora: Profª Adélia Pereira Miranda.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)-

Universidade José do Rosário Vellano

1. *Candida albicans* 2. *Microsporum nanun* 3.

Trichophyton sp 4. Suínos 5. Dermatófitos I. Reis,

Oswaldo Henrique Barolli . II. Ação antifúngica do óleo
essencial de *Rosa alba* L.

CDU: 632.95(043)

OSWALDO HENRIQUE BAROLLI REIS

AÇÃO ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Rosa alba* L.

Dissertação apresentada à Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS, como parte das exigências para conclusão do Curso de Mestrado em Ciência Animal.

Aprovada em: ____/____/____

Orientador: Prof^a. Dra. Adélia Pereira Miranda.
Universidade José do Rosário Vellano

Examinador: Prof. Dr. João Evangelista Fiorini.
Universidade José do Rosário Vellano

Examinador: Prof. Dr. Nelson Delú Filho.
Centro Universitário do Sul de Minas

Alfenas –MG

2011

AGRADECIMENTOS

A Deus, sempre comigo abençoando todos meus atos e me proporcionando disposição e saúde para vencer todas as etapas de minha vida.

A minha esposa, gostaria de registrar um agradecimento especial pelo incentivo incondicional, compreensão pelo período de ausência em horas dedicadas ao mestrado.

A minha mãe e irmãos, sempre pelo incentivo e força.

A orientadora, Prof. Dra. Adélia Pereira Miranda, por aceitar e confiar no trabalho proposto e dispensando ajuda com sua sabedoria e experiência sempre que solicitado.

Ao ex-orientador Prof. Dr. Lúcio Laudares Costa, pelo incentivo inicial que contribuiu muito para toda a montagem do projeto.

Ao Professor Dr. João Evangelhista Fiorini, pelo valioso auxílio, pela tranquilidade e sabedoria que muito contribuiu para o trabalho.

Ao Prof. Dr. Juscélio Clemente de Abreu pela valiosa ajuda no desenvolvimento das análises estatísticas e resultado da dissertação.

A Coordenadora do Senat, Daniela Martins, pela pronta disponibilidade quando solicitada em ajudar e a todos os colegas de trabalho pela compreensão.

A Universidade José Rosário Vellano (UNIFENAS) pela oportunidade de realização deste trabalho.

A todos os demais professores, funcionários e colegas de turma, que direta ou indiretamente, contribuíram para o meu êxito profissional.

OFEREÇO

A minha mãe, Maria Aparecida Barolli.

Ao meu avô, Augusto Barolli.

Ao meu tio, João Barolli.

Aos meus irmãos, Flávio Augusto, Luis Eduardo e João Paulo.

As minhas sobrinhas, Luísa e Yasmim.

DEDICO

A minha querida e amada esposa, Yára.

EPÍGRAFE

*“Há homens que lutam um dia e são bons.
Há outros que lutam um ano e são melhores.
Há os que lutam muitos anos e são muito bons.
Porém, há os que lutam toda a vida.
Esses, são os imprescindíveis”.*

Bertolt Brecht.

RESUMO

REIS, Oswaldo Henrique Barolli. **Ação antifúngica do óleo essencial de *Rosa alba* L.** Orientadora: Adélia Pereira Miranda. Minas Gerais: UNIFENAS - Universidade José do Rosário Vellano, 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal).

Na suinocultura, o estudo da micologia contribui tanto na segurança alimentar como no entendimento de diversas patologias. O conhecimento dos agentes fúngicos presentes na pele de animais saudáveis e com patologias superficiais é importante para um controle eficaz dos riscos potenciais de infecção, principalmente quando associados a espécies confinadas, onde o desequilíbrio da microbiota ambiental pode ser decisivo nas interações entre o ambiente e os animais. Objetivou-se investigar a atividade antimicrobiana *in vitro* do óleo essencial de pétalas de *Rosa alba* L. sobre o crescimento microbiano de leveduras *Candida albicans* (ATCC 10231) e fungos filamentosos causadores de processos infecciosos oportunistas na pele de suínos, tais como *Microsporum nanum* (ATCC 11832), *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533), *Trichophyton rubrum* (ATCC 10218) e *Trichophyton tonsurans* (ATCC 10870). Os óleos foram extraídos pelo processo de hidrodestilação em aparelho de Clevenger, utilizando partes frescas das pétalas de rosa branca. Os testes microbiológicos foram realizados pelo método de difusão em ágar (“pour-plate”) com meio de cultura ágar Sabouraud-dextrose. Poços de 5 mm de diâmetro, produzidos no ágar, foram preenchidos com 15 µL do óleo essencial e, em seguida, as placas contendo os fungos filamentosos foram incubadas de forma invertida, a 28 °C por 10 dias; e as placas contendo a levedura foram incubadas a 30 °C por 48 horas. Passado este tempo, os halos de inibição tiveram seus diâmetros medidos. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas através do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Verificou-se que a atividade do óleo essencial em estudo é significativa em relação ao crescimento das espécies microbianas testadas.

Palavras - chave: *Candida albicans*, *Microsporum nanun*, *Trichophyton sp.*, suínos, dermatófitos.

ABSTRACT

REIS, Oswaldo Henrique Barolli. **Antifungal action of essential oil of *Rosa alba* L.** Adviser: Adélia Pereira Miranda. Minas Gerais: UNIFENAS - University José do Rosário Vellano, 2011. Dissertation (Master's degree in Animal Science).

In swine culture, the study of mycology contributes to food security in the understanding of various diseases. A knowledge of fungal agents on the skin of healthy animals and surface pathologies is important for effective control of the potential risks of infection, especially when associated with confined species, where the imbalance in the microbiota of the environment can be crucial in the interactions between environment and animals. The objective was to investigate the *in vitro* antimicrobial activity of essential oil of *Rosa alba* L. petals on microbial growth of yeasts *Candida albicans* (ATCC 10231) and filamentous fungi that causes opportunistic infectious processes in the skin of pigs, such as *Microsporum nanum* (ATCC 11832), *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533), *Trichophyton rubrum* (ATCC 10218) and *Trichophyton tonsurans* (ATCC 10870). The oils were extracted by the process of hydrodistillation in Clevenger apparatus, using fresh white rose petals. Microbiological tests were performed by the agar diffusion method (pour-plate) with Sabouraud-dextrose. Wells 5 mm in diameter, produced in the agar, were filled with 15 µL of essential oil and the plates containing filamentous fungi were incubated in an inverted position at 28 °C for 10 days and the plates containing yeast were incubated at 30 °C for 48 hours. After this time, the inhibition circles were measured. The data were subjected to analysis of variance and means were compared by Tukey's test at 5% probability. It was found that the activity of essential oil under study is significant in relation to the growth of microbial species tested.

Keywords: *Candida albicans*, *Microsporum nanum*, *Trichophyton* sp., pigs, dermatophytes.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

		Página
FIGURA 1	Superfície de uma colônia de <i>T. mentagrophytes</i>	23
FIGURA 2	<i>T. mentagrophytes</i> , (A) frente da colônia, (B) verso da colônia e (C) micromorfologia.....	23
FIGURA 3	Estruturas microscópicas de <i>T. mentagrophytes</i> , com a presença de microconídios agrupados em torno dos conidióforos (A), e macroconídios charutóides (B).....	24
FIGURA 4	<i>T. rubrum</i> : macromorfologia (A) frente da colônia, (B) verso da colônia e (C) micromorfologia.....	26
FIGURA 5	Superfície de uma colônia de <i>T. tonsurans</i>	27
FIGURA 6	Aspecto microscópico de <i>T. tonsurans</i> evidenciando a presença de microconídios grandes e pequenos.....	28
FIGURA 7	<i>Tinea capitis</i> por <i>T. tonsurans</i> . Observam – se pelos tonsurados, alopecia e tufo de pelos normais.....	29
FIGURA 8	Superfície de uma colônia de <i>Microsporum nanum</i>	30
FIGURA 9	Aspecto microscópico de <i>M. nanum</i> , evidenciando a presença de macroconídios.....	30
FIGURA 10	Superfícies de colônias de <i>Candida albicans</i>	34
FIGURA 11	Aspecto microscópico <i>Candida albicans</i>	34
FIGURA 12	Flores e folhas de <i>Rosa alba</i> L.....	39
FIGURA 13	Aparelho de Clevenger para extração de óleo essencial.....	41
FIGURA 14	Subculturas dos microrganismos <i>T. tonsurans</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>M. nanum</i> e <i>T. rubrum</i> , respectivamente, da esquerda para direita.....	42
FIGURA 15	Preenchimento dos orifícios no ágar com o óleo essencial.....	43
TABELA 1	Médias aritméticas de 20 testes das medidas de halos de inibição de crescimento (mm) dos microrganismos <i>Candida albicans</i>, <i>Microsporum nanum</i>, <i>Trichophyton mentagrophytes</i>,	

Trichophyton rubrum e *Trichophyton tonsurans* testados frente

	o óleo essencial de pétalas de <i>Rosa alba</i> L.....	47
FIGURA 16	Halo de inibição por óleo essencial de pétalas de <i>Rosa alba</i> L. em placa de <i>T. mentagrophytes</i>	47
FIGURA 17	Halo de inibição por óleo essencial de pétalas de <i>Rosa alba</i> L. em placa de <i>T. tonsurans</i>	48
FIGURA 18	Halo de inibição por óleo essencial de pétalas de <i>Rosa alba</i> L. em placa de <i>T. rubrum</i>	48
FIGURA 19	Halo de inibição por óleo essencial de pétalas de <i>Rosa alba</i> L. em placa de <i>M. nanum</i>	49
FIGURA 20	Halo de inibição por óleo essencial de pétalas de <i>Rosa alba</i> L. em placa de <i>Candida albicans</i>	49

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	6
ABSTRACT	7
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	8
SUMÁRIO	10
1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVO	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1 Dermatofitoses	16
3.2 Patogenia	18
3.3 Dermatófitos	20
3.3.1 <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	21
3.3.2 <i>Trichophyton rubrum</i>	25
3.3.3 <i>Trichophyton tonsurans</i>	26
3.3.4 <i>Microsporum nanum</i>	28
3.3.5 <i>Candida albicans</i>	31
3.4 Fitoterápicos	35
3.5 Óleos essenciais	36
3.6 Rosa alba L	38
4 MATERIAL E MÉTODOS	40
4.1 Obtenção do material vegetal	40
4.2 Extração do óleo essencial	40
4.3 Testes de susceptibilidade à ação antimicrobiana do óleo essencial ..	41
4.3.1 Teste de difusão em ágar.....	41
4.3.1.1 Microrganismos e período de crescimento.....	42
4.3.1.2 Preparo do meio de cultura, dos controles e do inóculo.....	42
4.3.1.3 Leitura das placas e interpretação dos resultados.....	43
4.4 Análises estatísticas	44
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1 Rendimento da extração de óleo essencial	45
5.2 Testes com microrganismos	46

6 CONCLUSÃO.....	53
REFERÊNCIAS	54

1 INTRODUÇÃO

A crescente importância clínica atribuída às micoses em animais domésticos (MEINERZ *et al.*, 2007), aliada às dificuldades representadas pelo tempo de administração, toxicidade e alto custo dos antifúngicos, tem impulsionado a realização de pesquisas na tentativa de se obterem outras opções terapêuticas (CHAMI *et al.*, 2004; GIORDANI *et al.*, 2004). Nesse contexto, os fitoterápicos vêm ganhando espaço no cotidiano veterinário (CARMO *et al.*, 2008; PRESTES *et al.*, 2008; RUSENOVA & PARVANOV, 2009; CLEFF *et al.*, 2010).

A expansão da criação comercial de animais como vacas e porcos está provocando novas epidemias de zoonoses em âmbito mundial, e gerando problemas mais graves nos países em desenvolvimento, por ameaçar a segurança alimentar. Assim, é comprovada a capacidade de melhorar o desempenho dos suínos (PRESTES *et al.*, 2008).

A prática do uso de antimicrobianos como promotores de crescimento está sujeita a restrições em diversos países, pois o uso contínuo desses produtos pode resultar na seleção de microrganismos resistentes ao antibiótico utilizado (PEDROSO *et al.*, 2005).

No Brasil, a clortetraciclina, oxitetraciclina, penicilina, nitrofurazona, clorafenicol, avoparcina, os arsenicais, antimoniais e os nitrofuranos já foram proibidos como promotores de crescimento na produção animal. Estas proibições se devem à possibilidade do desenvolvimento da resistência bacteriana cruzada em humanos e à exigência do mercado consumidor por produtos (carne, leite, ovos) livres de resíduos de antibióticos. Isso, somado aos custos elevados para o desenvolvimento de novas drogas e aos resíduos que essas drogas podem deixar na carne, explica o surgimento de esforços consideráveis para que se racionalize o seu uso e se criem novas alternativas para o controle e combate de agentes patogênicos (UTIYAMA, 2004).

Existe, portanto, uma tendência mundial pela produção de alimentos mais saudáveis. E despertado grande interesse de consumidores e produtores para os riscos à saúde, decorrentes da utilização indiscriminada de produtos antibióticos e quimioterápicos nas dietas dos animais de produção. Como alternativas a essas

regulamentações, têm-se pesquisado inúmeros produtos, como os prebióticos, probióticos, ácidos orgânicos e, mais recentemente, os extratos vegetais, que devem garantir bons índices produtivos sem afetar a qualidade do produto final (VALE *et al.*, 2010).

Uma classe de produtos que pode vir a substituir os agentes antimicrobianos consiste dos aditivos fitogênicos, extratos herbais ou extratos vegetais. Esses extratos de plantas são constituídos por óleos essenciais que contêm misturas de substâncias, algumas das quais são princípios ativos, com efeito de promotor de crescimento em suínos e aves (LIMA *et al.*, 2001).

Considerando que a atenção primária em saúde animal pode ser definida pelo uso de tecnologias práticas, cientificamente seguras, socialmente aceitáveis e economicamente viáveis, ao alcance de toda comunidade, e a importância farmacológica e agrícola do uso de plantas na composição de antimicrobianos, os incentivos a estas pesquisas são crescentes (SOUZA & CONCEIÇÃO, 2010).

Pesquisa realizada por Chagas (2001) apontou para alternativas ao controle tradicional de carrapatos. A utilização de pastagens específicas pode reduzir a sobrevivência dos carrapatos no ambiente. Gramíneas como o capim - gordura são interessantes neste sentido. Aparentemente, o óleo essencial do capim - gordura tem efeito contra larvas do carrapato bovino.

São vários os efeitos observados *in vitro* que justificam as pesquisas nesta área para determinação das melhores combinações e dos níveis de inclusão dos extratos vegetais às dietas para melhorar o desempenho e a produção animal (HERNÁNDEZ *et al.*, 2004).

Segundo Castillejos *et al.* (2005), a suplementação com uma mistura de óleos essenciais aumentou a concentração de ácidos graxos voláteis totais sem afetar outros parâmetros fermentativos, sugerindo que a fermentabilidade da dieta foi afetada positivamente. Pesquisas realizadas por Allan *et al.* (2005) e Jesus (2007) demonstraram que as dietas contendo orégano enriquecido com óleos essenciais melhoram os índices reprodutivos das matrizes suínas.

Considerando a importância econômica da suinocultura e a necessidade de evitar a disseminação de doenças, além de assegurar níveis desejáveis de produtividade, faz-se necessário o desenvolvimento contínuo de pesquisas envolvendo produtos naturais alternativos às drogas sintéticas. Tais avanços convergem com a suinocultura moderna cada vez mais competitiva, que a cada dia

exige novas alternativas terapêuticas que contemplem as necessidades de um mercado consumidor mais exigente. Neste sentido, os estudos e resultados a campo com os óleos essenciais têm se mostrado como a alternativa mais promissora e eficaz aos quimioterápicos frente aos desafios da produção animal mundial (TEIXEIRA, 2006).

Na suinocultura, o estudo da micologia contribui tanto na segurança alimentar como no entendimento de diversas patologias. O conhecimento dos agentes fúngicos presentes na pele de animais saldáveis e com patologias superficiais é importante para um controle eficaz dos riscos potenciais de infecção, principalmente quando associados às espécies confinadas, onde o desequilíbrio da microbiota ambiental pode ser decisivo nas interações entre o ambiente e os animais.

A contaminação ambiental e de grãos utilizados na alimentação animal apresentam uma diversidade de agentes bacterianos e micóticos durante o processo de produção, mesmo em períodos em que as instalações se encontram em vazio sanitário.

O aparecimento de doenças imunossupressoras virais em plantéis suínos promove o aparecimento frequente de doenças micóticas, sobretudo aquelas de natureza oportunista, causando um maior impacto e conseqüentemente perdas econômicas no setor.

A transmissão para o homem pode ocorrer de uma pessoa para outra, a partir de dermatófitos do solo ou de animais e até mesmo indiretamente, por meio de material contaminado (HAINER, 2003).

A procura por novos compostos para controlar o crescimento de fungos patogênicos é uma área promissora de pesquisa e alternativa aos antifúngicos já utilizados.

Na fitoterapia, os óleos voláteis destacam-se por potentes efeitos biológicos e pelas suas propriedades antimicrobianas, analgésicas, sedativas, expectorantes, estimulantes e digestivas (SILVA & CASALI, 2000).

2 OBJETIVO

Avaliar, *in vitro*, os efeitos do óleo essencial de *Rosa alba* L. sobre o crescimento microbiano da levedura *Candida albicans* (ATCC 10231) e fungos filamentosos *Microsporum nanum* (ATCC 11832), *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533), *Trichophyton rubrum* (ATCC 10218) e *Trichophyton tonsurans* (ATCC 10870).

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 DERMATOFIToses

A maioria das doenças com repercussão cutânea, mesmo em quadros clínicos severos, normalmente não apresenta risco de morte aos animais. Entretanto as mesmas podem afetar significativamente o desenvolvimento dos suínos e provocar o emprego de estratégias terapêuticas e profiláticas bem específicas (REIS, 2007; ZAMPRONHA *et al.*, 2005).

As doenças da pele dos suínos podem ser de natureza infecciosa (bacteriana, viral, micótica e parasitária) ou não infecciosa (ambiental, nutricional, hereditária e neoplásica) e, eventualmente de caráter múltiplo (FERREIRO *et al.*, 2007; PEREIRA *et al.*, 2004; CAMERON *et al.*, 1999).

As dermatofitoses apresentam-se como as infecções fúngicas mais comuns em países tropicais, constituindo um problema de saúde pública e refletindo baixo nível de educação sanitária (CAVALCANTI *et al.*, 2003; MARTINI *et al.*, 1987). A distribuição e frequência das dermatofitoses e seus agentes etiológicos variam segundo a região geográfica e o nível socioeconômico da população (MATTÊDE *et al.*, 1986; NATARAJAN *et al.*, 2003).

Dentre as doenças micóticas da pele, que de maneira mais ampla poderiam ser chamadas de dermatomicoses, a principal é usualmente denominada de dermatofitose causada por dermatófitos (FERREIRO *et al.*, 2007).

A dermatofitose é uma doença fúngica cutânea de caráter contagioso. Dentre as características desta destacam-se a afinidade pela queratina afetando, portanto, pêlos, unhas, cascos, penas e células queratinizadas da pele (PEREIRA, 2004; PEREIRA & MEIRELES, 2001; SAUNTE *et al.*, 2007; WU *et al.*, 2009).

Os dermatófitos são classificados em três gêneros: *Epidermophyton*, *Microsporum* e *Trichophyton*, semelhantes em sua morfofisiologia, imunologia e taxonomia (NEUFELD, 2000; BONCOMPETE *et al.*, 1997), e que incluem cerca de 40 espécies, das quais somente algumas, pertencentes aos gêneros *Microsporum* e *Trichophyton*, são usualmente as causas de dermatofitose em animais domésticos. Podem ser divididos em três grupos ecológicos, conforme seu *habitat* e/ou

hospedeiros naturais; o grupo dos antropofílicos (humanos), dos zoofílicos (animais) e dos geofílicos (solo) (LEAL *et al.*, 2009; CABAÑES, 2000; NEUFELD, 2000). Infectam várias espécies animais, determinando, de modo geral, lesões secas, arredondadas e, comumente, não pruriginosas, que se distribuem focalmente na superfície cutânea, sem causar transtornos gerais aos animais afetados (SOBESTIANSKY *et al.*, 2001).

As dermatofitoses incluem diferentes formas clínicas resultantes da colonização dos dermatófitos e da conseqüente manifestação inflamatória do hospedeiro. Os aspectos clínicos variam de acordo com o sítio anatômico acometido e o agente etiológico envolvido. A severidade da doença, portanto, provavelmente está intimamente relacionada com o *status* imunológico em que o hospedeiro se encontra, assim como a espécie do microrganismo causador da infecção (RAND, 2000; SUMMERBELL, 1997). A doença pode ser transmitida através do contato direto com seres humanos, animais ou contato com o solo contaminado através de espécies antropofílicas, zoofílicas ou geofílicas. Acredita-se que a transmissão seja feita através de estruturas denominadas arthroconídios, que são encontrados em cabelos e escamas epidérmicas infectadas (PINTER *et al.*, 2004; LÓPEZ-MARTINEZ *et al.*, 1994).

Os animais atuam como reservatórios de dermatófitos zoofílicos e suas infecções têm considerável importância zoonótica (CABAÑES, 2000; BARANOVÁ *et al.*, 2003). Dermatófitos zoofílicos, como *Microsporum canis*, *Trichophyton verrucosum* e *Trichophyton mentagrophytes*, constituem importantes agentes de dermatofitose ou tinhas em humanos (CABAÑES, 2000; TAKAHASHI, 2003). As espécies de dermatófitos zoofílicos apresentam determinada distribuição entre os animais, sendo o *Microsporum canis* mais frequentemente observado em cães e gatos, *Trichophyton verrucosum*, em bovinos; *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton equinum* Var. *autotrophicum*, em equinos (CABAÑES, 2000; PEREIRA & MEIRELES, 2001). Em suínos, embora a doença seja de pouca frequência, há relatos da ocorrência de *M. canis*, *M. nanum*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum*, *T. tonsurans* e *T. verrucosum* (CABO *et al.*, 1988; CABAÑES, 2000; SOBESTIANSKY *et al.*, 2001), embora *M. nanum* seja o dermatófito mais frequentemente isolado destes animais (SOBESTIANSKY *et al.*, 2001).

A instalação do processo infeccioso patogênico das dermatofitoses é iniciada pela inoculação de um arthroconídio ou de fragmentos de hifas sobre a pele,

favorecida por uma lesão cutânea ou escoriação preexistente, associada à habilidade do fungo em degradar a queratina. No caso de pêlos acometidos, eles são sempre infectados secundariamente à evolução da lesão na pele, uma vez que essa se desenvolve de maneira circular e centrifuga até atingir a região do folículo piloso, sendo esta uma nova fonte de queratina para seu crescimento (SIDRIN & ROCHA, 2004; WEITZMAN *et al.*, 1995).

Muitas espécies de dermatófitos formam síndromes clínicas bem definidas e a mesma espécie pode estar envolvida em diferentes formas clínicas da doença, dependendo do sítio anatômico envolvido. As dermatofitoses podem ser classificadas clinicamente de acordo com as localizações anatômicas das lesões, utilizando a denominação *tinea* para todas as dermatofitoses, seguida do sítio anatômico onde se localiza a infecção, também em latim, por exemplo, *tinea capitis* (SIDRIM & MOREIRA, 1999; SUMMERBELL, 1997).

Tinea capitis acomete geralmente crianças e é menos frequente em adultos. Manifestam - se com infecções no couro cabeludo, sobrancelhas e cílios. É caracterizada pela produção de lesões que variam de forma branda e descamativa a uma forma eritematosa, acompanhadas de alopecia e que podem tornar-se severamente inflamadas formando lesões ulceradas profundas. São causadas principalmente por fungos dos gêneros *Trichophyton* e *Microsporum* as *tineas* do couro cabeludo (GURTLER *et al.*, 2005; LACAZ *et al.*, 2002).

3.2 PATOGENIA

Quando um animal é exposto a um dermatófito, pode ocorrer uma infecção. A ruptura mecânica do estrato córneo é importante para facilitar a penetração e invasão dos folículos pilosos. As hifas fúngicas disseminam-se na superfície do pelo e, posteriormente, migram para o bulbo do pelo, produzindo enzimas queratolíticas que permitem a penetração em sua cutícula. Neste ponto, o fungo estabelece um equilíbrio entre o crescimento para baixo e a produção de queratina, ou é expelido (PAIXÃO *et al.*, 2001).

Aderência aos queratinócitos da pele e a germinação artroconidial constituem etapas cruciais para o estabelecimento da infecção. Sendo assim, no

desenvolvimento de uma infecção ativa na pele intacta, o conídio, geralmente, deve penetrar na camada de queratina, estabelecendo o sítio de parasitismo. Na maioria das vezes, a hifa emergente é capaz de uma penetração tanto mecânica quanto enzimática. Alguns dermatófitos possuem estruturas especializadas para favorecer a invasão. Várias enzimas extracelulares como protease, lípases, fosfatases, nucleases e glicosidases são também produzidas com esse fim (TSUBOI *et al.*, 1992).

A queratina é uma escleroproteína altamente polimerizada, constituída de cadeias de polipeptídeos unidas por ligações dissulfeto (S-S), as quais mantêm a forma tridimensional da molécula. Sua alta resistência à maioria dos microrganismos é, provavelmente, devida a tais ligações. Os dermatófitos possuem um sistema enzimático capaz de quebrar as ligações S-S, resultando em compostos que possuem o grupamento – SH isolado. Parte do nitrogênio é liberado sob a forma de amônia. Tecidos que têm a capacidade de produzir queratina, como camadas queratinizadas de pele, pelos e unhas são altamente seletivos para o crescimento de dermatófitos, o que explica o fato de esses fungos infectarem somente os tecidos superficiais ricos em queratina, não tendo poder invasor (APODAGA *et al.*, 1989).

A hidrólise da queratina por proteínas proteolíticas é um aspecto conspícuo na patogenia das dermatofitoses. Entretanto, algumas enzimas extracelulares verificadas de espécies de *Trichophyton* e *Microsporum* são ativas apenas em pH neutro ou alcalino. Tendo a pele um pH fracamente ácido em sua superfície, há dúvidas se as queratinases trabalham como fatores de virulência (NEUFELD, 2000).

Segundo Gomides *et al.* (2002), as variações individuais, imunossupressão e locais dos ambientes cutâneos podem modular a patogenicidade dos elementos fúngicos depositados sobre a epiderme. A produção de enzimas extracelulares é dependente dos substratos acessíveis *in vivo* para o crescimento do dermatófito. Conseqüentemente, a agressividade do fungo sobre as estruturas queratinizadas poderá ser maior ou menor, conforme o suprimento nutricional encontrado. A formação de enzimas e a capacidade de causar inflamação cutânea contribuem para a disseminação do fungo, sendo a capacidade de os dermatófitos aderirem às superfícies da pele atribuída à presença das glicoproteínas contidas na parede celular destes microrganismos (SANTOS *et al.*, 2006). Como o dermatófito, em geral, não é capaz de sobreviver a uma reação inflamatória, tende a se afastar da região inflamada e a fixar-se no tecido normal adjacente.

Os dermatófitos não invadem as estruturas subepidérmicas, contudo, produzem respostas inflamatórias definidas e reações imunes mediadas por células em todos os indivíduos normais. A doença é desencadeada a partir da elaboração e secreção de substâncias tóxicas ou alergênicas que se difundem pela epiderme, atingindo a derme vascularizada, que é potencialmente capaz de responder à agressão dos materiais irritantes, realizando um processo inflamatório (WEITZMAN *et al.*, 1995; VERONESI, 1989).

Conforme cita Dealcanfreitas *et al.* (2005), a resolução espontânea ocorre quando os pelos infectados entram na fase telogênica ou se uma reação inflamatória for estimulada. A fase catagênica é traduzida pela parada na produção de queratina e isto cessa o crescimento do dermatófito, visto que ele necessita de pelos em franco crescimento para sua sobrevivência. Todavia, os artrósporos podem permanecer na haste do pelo, mas a reinfecção deste folículo piloso, em particular, não ocorre até que o desenvolvimento desse pelo seja novamente ativado.

3.3 DERMATÓFITOS

A classificação dos dermatófitos foi publicada por Chester Emmons, em 1934, a qual é utilizada atualmente, baseada nas diferenças na morfologia microscópica e nos modos de esporulação; reconhecem - se apenas três gêneros, os quais são aceitos até os dias de hoje: *Epidermophyton*, *Microsporum* e *Trichophyton* (NEGRONI, 2010; KONEMAN, 2008; SUMMERBELL, 2000; SUMMERBELL, 1997).

A forma sexuada dos fungos é denominada teleomórfica e a denominação anamórfica é usada para a forma reprodutiva assexuada. Até o presente momento somente espécies dos gêneros *Microsporum* e *Trichophyton* são capazes de apresentar forma sexuada (LACAZ *et al.*, 2002).

A patogenicidade dos microrganismos está relacionada com a produção de proteases que lhes permitam parasitar tecidos queratinizados, como o estrato córneo; a enzima específica é denominada queratinase. As hifas fúngicas disseminam-se na superfície do pelo e, posteriormente, migram para o bulbo do

pelo, produzindo enzimas queratolíticas que permitem a penetração em sua cutícula (JOUSSON *et al.*, 2004; PAIXÃO *et al.*, 2001; SMITH, 2000; SANDANI *et al.*, 1995).

De acordo com o modelo *in vitro* apresentado por Aljabre *et al.*(1992), o padrão de crescimento de dermatófitos em estrato córneo ocorre em três etapas: a germinação de artroconídios, a penetração no estrato córneo, seguida de formação de novos artroconídios.

Os dermatófitos são os principais agentes etiológicos das onicomicoses e representam em torno de 75% dos casos (CARVALHO, 2010).

3.3.1 *Trichophyton mentagrophytes*

É um dos dermatófitos mais comumente encontrados no homem, nos animais e no solo (OYEKA, 2000; WAKABAYASHI *et al.*, 2002). São espécies zoofílicas que parasitam um número elevado de animais (coelhos, cavalos, porcos, galinhas etc), razão pela qual a infecção em meios rurais é mais frequente que no meio urbano (CALVO *et al.*, 2002).

A transmissão ao homem ocorre através de contato direto com o animal infectado, ocasionando infecção superficial de pele. Há relatos de casos, sendo possível a difusão da doença entre animais da criação, e também ao tratador (FERNANDES *et al.*, 2006; SHAHI *et al.*, 2000) e neste pode causar dermatofitose inflamatória nos pés, no corpo, nas unhas, na barba e no couro cabeludo (TRABULSI *et al.*, 2005; SIDRIM & ROCHA, 2004).

Esta espécie possui pelo menos cinco variantes diferentes. Basicamente o que diferencia estas variantes são suas características relacionadas à ecologia dos dermatófitos. *T. mentagrophytes var. interdigitale* é um antropofílico causador de *tinea pedis*, *tinea corporis* e, algumas vezes, invade a lâmina ungueal, apresentando pontos brancos; *T. mentagrophytes var. nodulare* é uma forma rara antropofílica que ocasionalmente é isolado em casos de *tinea pedis*, não invade o cabelo *in vivo*, mas perfura o pelo *in vitro*; *T. mentagrophytes var. mentagrophytes* é zoofílico, infectando grande número de animais, como macacos, cobaias, gatos, cavalos, carneiros,

coelhos e cangurus, podendo produzir lesões mais inflamatórias na pele e couro cabeludo de humanos; *T. mentagrophytes* var. *quinckeanum* é zoofílico e causa lesões crostosas em camundongos e, ocasionalmente, no homem; *T. mentagrophytes* var. *erinacei* é também zoofílico, isolado em ouriços e raramente em humanos, encontrado atualmente em regiões da Europa e Nova Zelândia. Todas estas variantes compõem o complexo *T. mentagrophytes*, e sua diferenciação se torna impossível em um único meio, portanto será tratado nesse trabalho em sua totalidade, como o complexo (OUTERBRIDGE, 2006; OYEKA, 2000; HOUCK *et al.*, 1996; CHENG *et al.*, 1967; AJELLO, 1962).

T. mentagrophytes é universalmente distribuído onde suas formas antropofílicas e zoofílicas são encontradas, acometendo o homem principalmente nas regiões do couro cabeludo, pés e mãos, unhas e regiões interdigitais. Clinicamente, essa espécie é responsável pela segunda ou terceira causa de dermatofitose em humanos. Quando essas lesões são provocadas por variações zoofílicas, apresentam maior intensidade inflamatória (OYEKA, 2000; RIPPON, 1988; SALEBIAN & LACAZ, 1980).

O crescimento do dermatófito é relativamente rápido, com amadurecimento em 3-5 dias. Numerosas variações na morfologia da colônia são vistas entre as variantes que compõem o complexo *T. mentagrophytes*: podem ser algodonosas ou granulares. Em ágar Sabouraud dextrose, a forma antropofílica cresce com colônias planas, de coloração branca a creme e superfície aveludada, pulverulenta ou até mesmo cotonosa (FIG. 1); com reverso pigmentado de amarelo a marrom, escurecendo com a idade. Em ágar batata, o micélio aéreo é esparso com numerosos esporos. Em isolados zoofílicos, no ágar Sabouraud dextrose, as colônias são geralmente planas, de coloração branca a creme e superfície pulverulenta a granular; o reverso apresenta pigmento amarronzado ou marrom-amarelado (SIDRIM & ROCHA, 2004; LACAZ *et al.*, 2002; OYEKA, 2000) (FIG. 2).

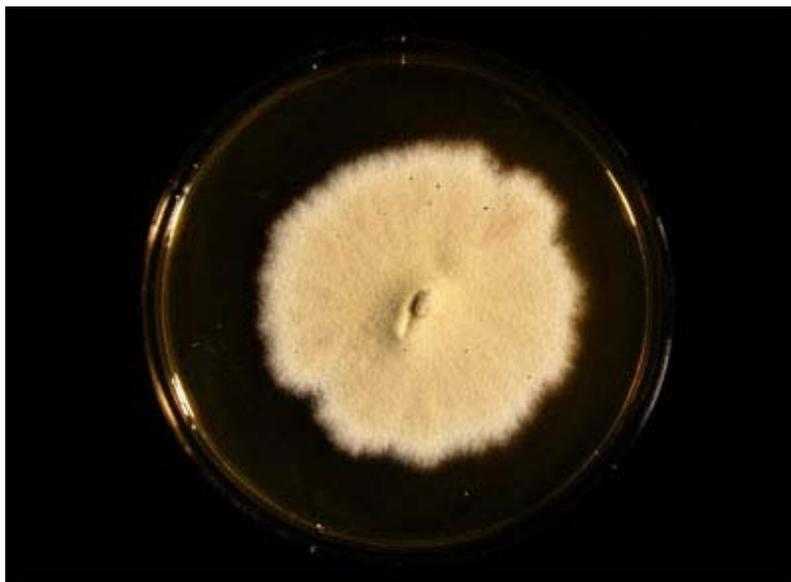


FIGURA 1 - Superfície de uma colônia de *T. mentagrophytes*.
FONTE: KONEMAN (2008).

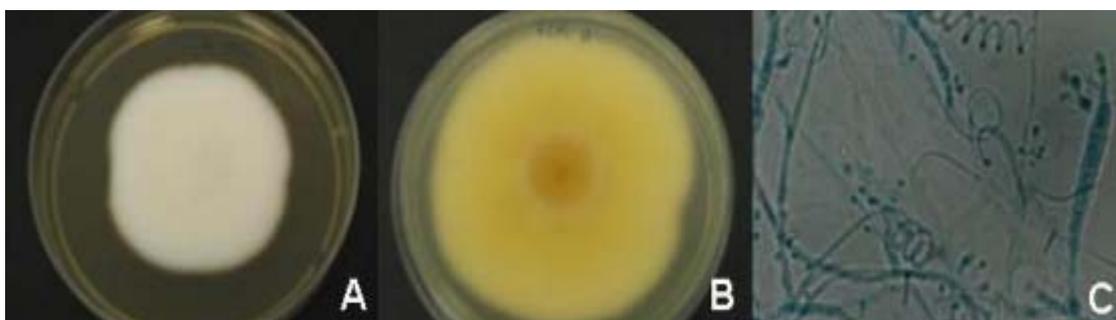


FIGURA 2 - *T. mentagrophytes* (Colônia em Ágar Sabouraud - Dextrose a 2%, 25°C, 28 dias):

macromorfologia, frente da colônia (A), verso da colônia (B) e micromorfologia (C).

FONTE: SANTOS *et al.* (2009).

Microscopicamente, o fungo possui hifas hialinas septadas com macroconídios dificilmente presentes. Esses são longos, charutóides e de parede fina e lisa, com estreita aproximação às hifas, geralmente com 3 a 5 septos, sendo comumente encontrados nas colônias mais jovens. Estes esporos possuem dimensões em torno de 20-50 μm por 4-8 μm . A principal característica de *T. mentagrophytes*, no entanto, é a presença de microconídios globosos e agrupados

nas ramificações dos conidióforos (hifas especiais que dão origem aos conídios), cujo arranjo lembra um cacho de uvas (FIG. 3). Esses são mais abundantes em cepas zoofílicas, cujas colônias apresentam-se mais granulosas. Podem também ser vistas hifas na forma de espiral assim como corpos nodulares e clamidoconídios, em algumas cepas (KONEMAN, 2008; LACAZ *et al.*, 2002; OYEKA, 2000; LARONE, 1995).

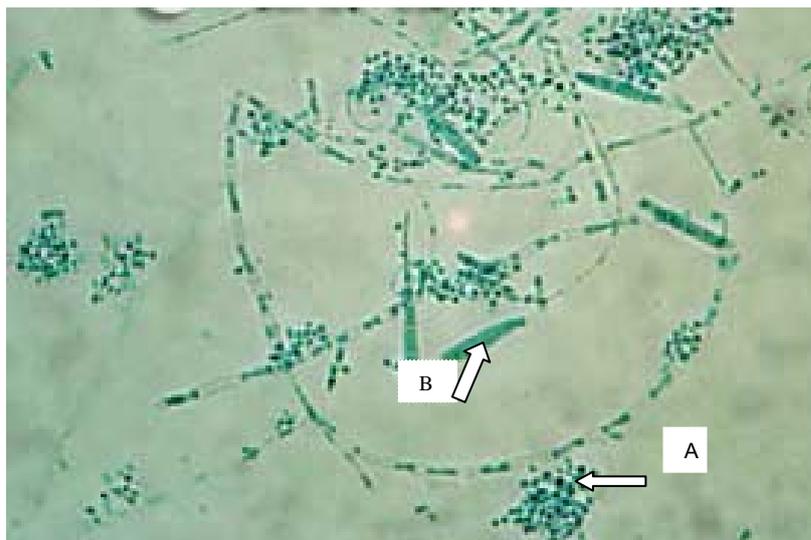


FIGURA 3 - Estruturas microscópicas de *T. mentagrophytes*, com a presença de microconídios agrupados em torno dos conidióforos (A), e macroconídios charutóides (B).

FONTE: RIPPON (1988).

Aspectos fisiológicos são bastante marcantes em cepas de *T. mentagrophytes*. Dessa maneira, pode-se observar intensa atividade da enzima uréase, facilmente detectável em meio de Christensen, positivando o teste em poucos dias; perfuração das hastes do pelo (endotrix) *in vitro* em até 40 dias e ausência de pigmentação em meio ágar batata (LACAZ *et al.*, 2002; OYEKA, 2000).

A caracterização da morfofisiologia química da camada das microconídias de *T. mentagrophytes* revelou que sua constituição é predominantemente de proteínas, com alguns polissacarídeos e melanina. A presença de um alto conteúdo de glicina, lisina, ácido aspártico e ácido glutâmico na proteína pode implicar a presença de ligações cruzadas entre os aminoácidos, melanina ou de outras subunidades

estruturais. Essas ligações cruzadas promovem maior resistência do microrganismo a diversos produtos químicos e de enzimas proteolíticas (HASHIMOTO *et al.*, 1976).

Conforme citam Coelho *et al.* (2007), o dermatófito *T. mentagrophytes* é considerado a espécie mais frequentemente isolada em coelhos.

3.3.2 *Trichophyton rubrum*

É um dermatófito antropofílico, e recentemente se tornou o mais comum e largamente distribuído dermatófito que acomete o homem, sendo um dos principais causadores de dermatofitoses, a exemplo de *tinea unguium*, *tinea pedis*, *tinea manuum*, *tinea corporis* e, ocasionalmente, *tinea capitis*. É responsável por cerca de 70% dos casos de dermatofitoses em humanos do mundo (SANTOS & HAMDAN, 2005).

Trabalhos desenvolvidos por pesquisadores da América do Sul e do Norte, além da Europa, colocam este microrganismo como sendo um dos mais comumente isolados em casos de dermatofitoses nessas regiões e com reconhecida resistência à terapêutica tópica (RUIZ & ZAITZ, 2001; COSTA *et al.*, 2002; PADILLA *et al.*, 2002; VALDIGEN *et al.*, 2006). No Brasil, ele também continua sendo o dermatófito mais frequentemente isolado (AQUINO *et al.*, 2007; COSTA *et al.*, 2002; RUIZ & ZAITZ, 2001).

T. rubrum tem uma taxa de crescimento lenta, tornando-se completamente maduro em torno de 14 dias. As colônias em seu crescimento primário são geralmente cotonosas e brancas, tornando-se aveludadas posteriormente. O reverso da colônia apresenta pigmentação de coloração avermelhada ou vermelho-púrpura, que se difunde no meio de cultivo; melhor evidenciado em ágar batata. Em certas ocasiões, a coloração é inicialmente amarelada, escurecendo gradativamente até se tornar vermelha. As colônias possuem pregas radiais, formando uma pequena saliência no centro. Suas hifas são hialinas, septadas, com microconídios em forma de lágrima ou gota, com aproximadamente 2-3 por 3-5 µm, dispostos ao longo das hifas ou em cachos. Os macroconídios são raros, produzidos geralmente por amostras mais granuladas, esporulantes, formados no final das hifas, sozinhos ou em grupos. Eles são longos, estreitos, com bordas laterais bem paralelas, paredes

finas, com 2-8 septos e dimensões de 6-8 por 60-80µm (CHAMPE *et al.*, 2008; LACAZ *et al.*, 2002; LARONE, 1995) (FIG. 4).



FIGURA 4 – *T. rubrum* (Colônia em Ágar Sabouraud - Dextrose a 2%, 25°C, 28 dias):

macromorfologia, frente da colônia (A), verso da colônia (B) e micromorfologia (C).

FONTE: SANTOS *et al.* (2009).

Além dos critérios morfológicos, alguns testes são importantes na diferenciação do *T. rubrum* de outras espécies. A produção de pigmento em meio ágar batata e a ausência na perfuração de pêlos *in vitro* podem auxiliar na diferenciação entre o *T. rubrum* e o *T. mentagrophytes*. Além disso, o *T. rubrum* é incapaz de hidrolisar a ureia, no teste de urease em meio de Christensen, diferentemente do *T. mentagrophytes* (LACAZ *et al.*, 1999). Causa dermatofitose do corpo, dos pés, da virilha e das unhas. Tal fungo pode causar nódulos ou abscessos subcutâneos em pacientes imunodeprimidos (CHAMPE *et al.*, 2008).

3.3.3 *Trichophyton tonsurans*

Trichophyton tonsurans possui a seguinte sinonímia: *Trichophyton epilans*, *T. sabouraudi*, *T. crateriforme*, *T. acuminatum*, *T. sulfureum*. Juntamente com o *T. violaceum* constituem os agentes das tinhas tricofíticas tipo endotrix. Ambos antropofílicos (COSTA, 1991).

O *Trichophyton tonsurans* destacou-se como o segundo maior causador de dermatofitose em pacientes humanos, entretanto, ao contrário do que ocorreu com o *T. rubrum*, verificou-se alta frequência de *T. tonsurans* nas microepidemias

familiares. Estudos em outros centros urbanos mostraram que este dermatófito antropofílico foi introduzido a partir de correntes migratórias e, uma vez instalado, tornou-se a espécie dominante (CHIMELLI *et al.*, 2003).

Os casos de *Tinea capitis* no Brasil, causados pelo *T. tonsurans*, ocorrem com mais freqüência nos estados acima do Trópico de Câncer. Esse fungo parece bem adaptado às condições ambientais das regiões Norte e Nordeste, sendo endêmico na região amazônica e raramente foi isolado no Rio Grande do Sul. Tem sido descrito em todo Brasil, em casos isolados ou em microepidemias (COSTA, 1991).

O crescimento é lento, exigindo de 7-10 dias para a maturidade. As colônias apresentam superfície amarelo-clara granular característica, com o desenvolvimento de profundas rugas radiais no amadurecimento (FIG. 5). Macronídios nunca são observados nos isolados laboratoriais e os microconídios assumem formato de baqueta ou balão (FIG. 6). Causa tinea do couro cabeludo, tinea capilar com pontos pretos e às vezes dermatofitose do corpo, dos pés e das unhas (OLIVEIRA, 1999) (FIG. 7).



FIGURA 5 - Superfície de uma colônia de *T. tonsurans* cultivadas em Ágar Sabouraud – Glicose a 2%.
FONTE: SOUZA E FERNANDES (2001).



FIGURA 6 - Aspecto microscópico de *T. tonsurans* evidenciando a presença de microconídios grandes e pequenos.

FONTE: OLIVEIRA (1999).



FIGURA 7 - *Tinea capitis* por *T. tonsurans*. Observam – se pelos tonsurados, alopecia e tufo de pêlos normais.

FONTE: OLIVEIRA (1999).

3.3.4 *Microsporum nanum*

Microsporum nanum, uma causa comum de doença da pele de suínos e, ocasionalmente, no homem, foi isolado pela primeira vez em Cuba, em 1954. A infecção por este fungo foi primeiramente relatada em suínos nos Estados Unidos, em 1964. A infecção com *M. nanum* foi estudada pela Nova Zelândia, em 1972, onde agricultores se infectaram e identificaram - se macroconídios maduros

(macroaleuriósporos) de *M. nanum* em amostras de solo de um *habitat* de suínos (LONG *et al.*, 1972).

No Brasil, o primeiro relato de dermatofitose em suínos (sete animais da raça Landrace) por *M. nanum* foi descrito por Mós *et al.*(1978). Recentemente, um estudo cita a detecção de 11 isolados de *M. nanum* (CAMPOS *et al.*, 2001).

Em outros países, existem vários relatos, tais como na Austrália, Canadá, Itália, Nova Zelândia e nos Estados Unidos. *M. nanum* também já foi isolado de outros animais, tais como cães e cabras (ZDOVC & VERGLES, 2006).

Esta espécie possui pelo menos seis variantes diferentes: *M. canis*, *M. gypseum*, *M. gallinae*, *M. nanum*, *M. fulvum* e *M. persicolor ferrugineum* (LEON-MATEOS *et al.*, 2006).

García-Sánchez *et al.* (2009) descrevem um surto de dermatofitose por *Microsporum nanum* em uma fazenda tradicional ibérica. A morbidade foi de 100% entre as porcas em lactação, no entanto, o aleitamento materno e desmame de suínos e javalis nunca desenvolveram as lesões vistas nas cerdas.

A espécie *Microsporum nanum* apresenta colônias com crescimento rápido, de 3 a 5 dias, de textura frequentemente algodonosa, podendo ainda apresentar colônias de textura arenosa ou glabrosa. A coloração da colônia varia de branca a amarela clara, podendo apresentar nuances de cor salmão (FIG. 8). Seu lado reverso é de coloração entre amarela e marrom-avermelhada; com o amadurecimento podem surgir tufo na superfície da colônia. Caracteriza-se microscopicamente pela presença, após cultura, de estruturas de frutificação conhecidas como macroconídios (FIG. 9); observa-se a presença de muitos macroconídios, que são estruturas multicelulares e têm parede celular espessa, equinulada ou verrucosa. Associadas aos macroconídios, às vezes podem ser observadas estruturas também de frutificação, bem menores, hialinas, e apresentam formato elíptico ou de lágrima, com 3-5 µm, e se ligam diretamente nas laterais das hifas, conhecidas como microconídios (KONEMAN, 2008; SIDRIM *et al.*, 2004; HOOG *et al.*, 2000).

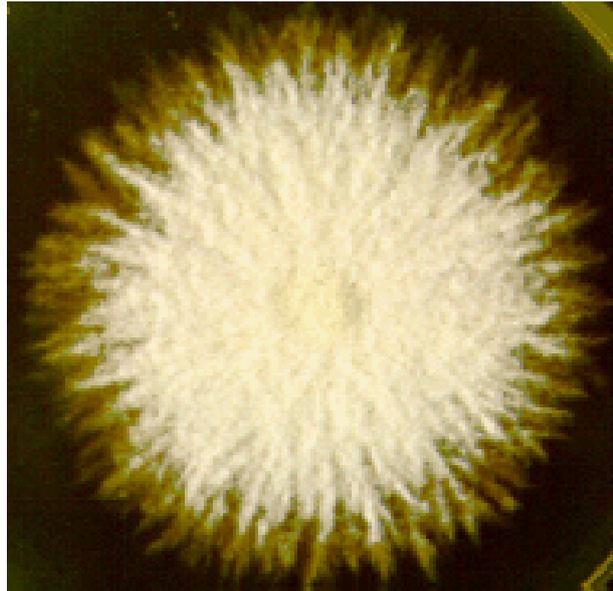


FIGURA 8 - Superfície de uma colônia de *M. nanum*.
FONTE: RIPPON (1988).

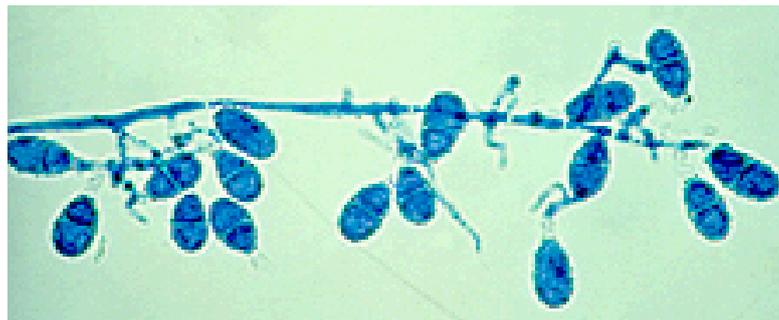


FIGURA 9 - Aspecto microscópico de *M. nanum*, evidenciando a presença de macroconídios.
FONTE: RIPPON (1988).

M. nanum apresenta teste de perfuração de pelo positivo, crescimento satisfatório nos meios suplementados com tiamina, ácido nicotínico, inositol e histidina. A maioria das cepas apresenta teste de urease positivo (BRILHANTE *et al.*, 2005; RIPPON, 1988). Também é o dermatófito mais adaptado ao parasitismo da espécie suína. Outras espécies como *M. gypseum* ou *M. canis*, que podem ocorrer sob forma de surto, são esporadicamente registrados na literatura mundial como casuística de dermatofitose suína. No Brasil, *M. canis* foi isolado de vários animais (27 leitões) em surto ocorrido em São Paulo, e a contaminação ocorreu através do contato com gato comprovadamente infectado (LONDERO & BENAVENTA, 1972).

As lesões descritas como sendo típicas do *M. nanum* iniciam normalmente como pequenos pontos circunscritos, muito difíceis de serem observados, mas que tendem a aumentar gradualmente e adquirir aspecto circular que pode atingir extensas áreas da pele, a qual apresenta uma cor avermelhada (eritematosa) a marrom claro e espessada, mas não elevada. Nos bordos da área afetada, crostas secas podem se desenvolver, mas, interessante, não se formam áreas alopecicas e nem se observa sinal clínico de prurido. Muitas vezes devido à sujidade na pele dos animais, a lesão passa despercebida (FERREIRO *et al.*, 2007).

Em casos crônicos, as lesões são frequentemente observadas na região posterior das orelhas dos suínos adultos, e têm aspecto de crostas marrons espessas e disseminadas para a região do pescoço e adjacências (GINTHER, 1966).

3.3.5 *Candida albicans*

Desde longa data a levedura *Candida albicans* tem sido responsabilizada por diversas infecções em humanos e animais, sobretudo nas mucosas oral, esofágica ou gástrica (CLEFF *et al.*, 2005). É uma micose cosmopolita essencialmente oportunista.

Langenbeck, em 1839, observou pela primeira vez a levedura, hoje conhecida como *Candida albicans*, em aftas bucais de um paciente com tifo, tendo erroneamente considerado este microrganismo o agente etiológico da doença. Mais tarde, em 1842, David Gruby definiu a candidíase oral e classificou esse microrganismo no gênero *Sporotrichum*. Em 1846, Berg estudou detalhadamente o microrganismo, estabelecendo, definitivamente, a sua relação com a candidíase oral. Alguns anos mais tarde, em 1853, Charles Robin denominou esse microrganismo de *Oidium albicans*, redenominado por Zopf, em 1890, de *Monilia albicans*. Somente em 1923, Berkhout transferiu essa espécie para o gênero *Candida* e criou a espécie *Candida albicans* (SIDRIM & ROCHA, 2004; ARORA *et al.*, 1991). Atualmente o gênero vem sendo associado a quadros de fungemia em humanos. Além disto, estudos têm demonstrado resistência a agentes antifúngicos

azólicos, demonstrando a importância do estudo deste gênero (BRITO *et al.*, 2007; POSTERARO *et al.*, 2006; ANTUNES *et al.*, 2004; CARVALHAES, 2000).

O gênero *Candida* é constituído por leveduras que apresentam reprodução assexuada, cujos mecanismos de divisão celular envolvem o brotamento simples, brotamento fissão e divisão binária (GUARRO *et al.*, 1999; HOOG *et al.*, 2000; SIDRIM & ROCHA, 2004). Pertence ao Reino Fungi, *Filo Ascomycota*, *Subfilo Ascomycotina*, *Classe Hemiascomycetes*, *Ordem Saccharomycetales* e *Família Saccharomycetaceae* (HOOG *et al.*, 2000). Porém, recente classificação filogenética do Reino Fungi reclassifica a ordem *Saccharomycetales* como pertencente à Classe *Saccharomycetes* e Subfilo *Saccharomycotina* (HIBBETT *et al.*, 2007).

Na boca as lesões podem ocorrer sob a forma de placas pseudomembranosas (“sapinho”) o que dificulta a alimentação e muitas vezes causam a morte do animal por caquexia. Aparentemente a *Candida albicans* tem como alvo preferencial, em situações favoráveis para desenvolvimento do seu potencial patogênico, a parte inferior do esôfago e a região esofageana da mucosa gástrica (GUILLOT & CHERMETTE, 2003).

Candida albicans é a espécie mais isolada nos quadros patológicos, e também é a mais comum como simples sapróbio em algumas localizações do corpo humano, em particular o aparelho digestivo (0-55%), a vagina (2-68%) e a cavidade oral (2-41%) (ODDS, 1988).

A candidose cutânea é quadro pouco frequente e pode se manifestar quando o estado imunitário dos animais estiver comprometido. Em suínos tem sido descrita em animais alimentados com lixo e restos alimentares em diversas procedências e criados em condições inadequadas, sobretudo em ambientes úmidos, com registro de morbidade atingindo até 40 % dos animais. As lesões mais observadas consistem de áreas alopecias de diâmetro pequeno, com exsudato úmido e disseminadas por toda área corporal. A pele se apresenta espessada e com dobras (COSTA *et al.*, 1985).

Zlotowski *et al.*(2004) relataram dois casos de candidose mucocutânea por *Candida albicans* em leitões imunodeprimidos, provenientes de rebanhos com circovirose.

Segundo Agarwala *et al.* (2006), os principais agentes etiológicos das onicomicoses são os dermatófitos, isolados em até 75% dos casos. As leveduras do gênero *Candida* ocorrem em torno de 18 a 20% dos casos.

A onicomicose é considerada um problema de saúde pública devido à alta prevalência associada às morbidades como: diabetes, circulação periférica diminuída; traumatismo ungueal de repetição, imunodeficiências (ELEWSKI, 1998). É doença cuja notificação compulsória não existe e dificulta a avaliação precisa da extensão do problema em nosso meio. Assim, as onicomicoses interferem na qualidade de vida do paciente e gera prejuízo estético, refletindo diretamente na autoestima, vaidade, discriminação social e no potencial de trabalho do paciente (LOPES *et al.*, 1999).

De acordo com Rodriguez & Jodra (2000), as onicomicoses foram incluídas no grupo das micoses cutâneas por serem usualmente consideradas infecções fúngicas superficiais e apresentarem uma reação hiperkeratósica com destruição da lâmina ungueal e outras estruturas.

Os aspectos macroscópicos são identificados através da técnica do meio de cultivo para isolamento e análise morfológica das espécies de leveduras, cujo meio é Sabouraud com cloranfenicol. O tempo de crescimento das leveduras é observado em torno de sete dias para que possa ocorrer maturação completa das estruturas fúngicas. O aspecto macroscópico da levedura é de consistência cremosa com coloração branca a creme, nas bordas e no reverso do meio de cultura, é visualizado um aspecto arborescente, que microscopicamente corresponde à presença de pseudo-hifas (pseudomicélio ou micélio gemulante) (KONEMAN, 2008; SIDRIM & ROCHA, 2004; LACAZ *et al.*, 2002; MUELLER *et al.*, 2002) (FIG. 10).



FIGURA 10 - Superfícies de colônias de *Candida albicans* cultivadas em Ágar Sabouraud Dextrose a 25 °C.

FONTE: TRABULSI (2005).

Segundo Summerbell (1997), nas onicomicoses por *Candida spp*, o exame direto do material clínico pode ser realizado com potassa (KOH) ou coloração pelo método de Gram (são Gram - positivas), onde são observados blastoconídios com brotamento único e pseudo-hifas. A presença de células leveduriformes somente, mesmo que em abundância, pode significar meramente colonização. Cleff *et al.* (2008) citam que a identificação microscópica de *Candida albicans* caracteriza-se pela presença de clamidoconídios ou clamidósporos, esporos arredondados, de parede dupla, isolados ou agrupados na extremidade das pseudo-hifas (FIG. 11).



FIGURA 11 - Aspecto microscópico de *C. albicans*.

FONTE: TRABULSI (2005).

3.4 FITOTERÁPICOS

Assume-se hoje que a maior parte dos produtos farmacêuticos foi desenvolvida a partir dos produtos naturais. A despeito deste fato, estima-se que das 300 mil espécies de plantas no mundo, apenas 15% delas tenham sido submetidas a algum estudo científico para avaliar suas potencialidades na preparação de novos produtos. Estima-se também que 70% das plantas existentes no planeta ocorrem em apenas 11 países: Austrália, Brasil, China, Colômbia Equador, Índia, Indonésia, Madagascar, México, Peru e República Democrática do Congo (NOGUEIRA *et al.*, 2010).

A biodiversidade e o potencial econômico da flora brasileira, desde 1886, já eram descritos em inventários, testemunhando a sua riqueza em plantas produtoras de frutos alimentares, resinas, óleos, gomas, aromas, e, principalmente, o potencial medicinal, sendo muitas espécies citadas (JACOBSON *et al.*, 2005). Porém, os países desenvolvidos, como EUA, Japão e os europeus são os que mais manufaturam e comercializam produtos naturais (KLEIN *et al.*, 2010).

Em países industrializados, dados mostram que o uso das plantas medicinais constitui cerca de 20% do total de prescrições médicas, sendo que em países emergentes esse número atinge 80%. Diante desse quadro, diversos alertas têm surgido na literatura científica e leiga, no sentido de incentivar a comunidade médica à utilização de fitoterápicos como uma possibilidade real de tratamento. Não se deve olvidar, entretanto, que esta utilização deve ponderar sobre a dosagem, a forma de dispensação, os efeitos benéficos, os potenciais efeitos tóxicos e as interações medicamentosas, a fim de assegurar o uso racional dos mesmos (FELTRIN & CHORILLI, 2010; RATES, 2001).

O reconhecimento do potencial medicinal das plantas, como recurso terapêutico vem recebendo maior atenção do governo brasileiro ao passo que o Ministério da Saúde autorizou a utilização de 34 plantas com eficácia terapêutica (BRASIL, RDC nº89/2004). Conquista também importante é o Decreto 5.813, de 22 de junho de 2006, que determina a criação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Em linhas gerais seu objetivo consiste em garantir acesso seguro e uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo uso sustentável da biodiversidade, e de desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (BRASIL, 2006).

A grande incidência de infecções, principalmente em indivíduos imunocomprometidos, assim como os crescentes custos do tratamento destas infecções, causadas por microrganismos cada vez mais resistentes, aumenta a importância da procura e descoberta de compostos terapêuticos alternativos (BERTINI *et al.*, 2005).

A fitoterapia está sendo muito explorada, por se tratar de um método natural de tratamento das enfermidades (OLIVEIRA *et al.*, 2002) e de ser uma alternativa natural no controle de pragas, em substituição aos inseticidas sintéticos, altamente tóxicos ao homem e ao meio ambiente (FERNANDES *et al.*, 2006).

Na Natureza, existem diversos tipos de substâncias antimicrobianas que desempenham um importante papel na defesa dos seres vivos. Um exemplo são as denominadas fitoalexinas (alcaloides, compostos fenólicos, flavonoides etc.), que são produzidas pelas plantas como reação de defesa em resposta a um estímulo em situações de estresse físico (temperatura, luz etc.), biológico (microrganismos) e químico (substâncias químicas). Pode-se citar como exemplo o resveratrol, presente em cascas e sementes de uvas pretas, produzido como defesa contra bactérias, fungos e mecanismos abióticos, tais como a radiação ultravioleta, a exposição ao ozônio e a injúria por dano mecânico (CANTOS *et al.*, 2000). Este possui ação antioxidante (impede a oxidação do LDL circulante no sangue), inibe a agregação plaquetária, previne úlceras e tem possível ação anticancerígena no homem (RAUHA *et al.*, 2000; YUNES *et al.*, 2001; DE GÁSPARI *et al.*, 2005).

3.5 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais são líquidos oleosos, voláteis dotados de aroma forte e quase sempre agradável, provenientes do metabolismo secundário vegetal, presente em quase duas mil espécies e distribuídos em sessenta famílias de plantas. São normalmente elaborados nas folhas e armazenados em espaços extracelulares, entre a cutícula e a parede celular (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Os óleos essenciais são quimicamente constituídos, em sua maioria, de substâncias terpênicas e eventualmente de fenilpropanoides, acrescidos de moléculas menores, como álcoois, ésteres, aldeídos e cetonas de cadeia curta. O perfil terpênico apresenta normalmente substâncias constituídas de moléculas de dez e de quinze átomos de carbono (mono e sesquiterpenos), mas, dependendo do método de extração e da composição da planta, terpenos menos voláteis podem aparecer na composição do óleo essencial (NICARETA, 2006).

Os metabólitos secundários são derivados biossinteticamente de intermediários do metabolismo primário, cujas rotas possuem estreita relação. Os compostos secundários são divididos em três grupos distintos quimicamente: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados. A produção desses compostos resulta dos processos de biossíntese, transporte, degradação e armazenamento, que são afetados pelo genótipo, estágio ontogenético e por fatores

ambientais (TAIZ & ZEIGER, 2004). A maioria dos compostos é estocada nos vacúolos de células que fazem parte de tecidos específicos da planta e sua produção é baixa, representando menos de 1% da biomassa seca (OKSMAN-CALDENTEY & INZÉ, 2004).

As substâncias odoríferas de plantas foram consideradas por muito tempo como “desperdício fisiológico”, ou mesmo como produtos de eliminação. Atualmente, considera-se a existência de funções ecológicas, especialmente como inibidores da germinação, na proteção contra predadores, na atração de polinizadores, para evitar a perda de água e aumento da temperatura, entre outras (CARDOSO *et al.*, 2001; FAZOLIN *et al.*, 2002; PAULA, 2002).

Os óleos essenciais são compostos de grande importância em pesquisas, por serem potencialmente úteis no controle fitossanitário, propiciando o desenvolvimento de técnicas que procuram diminuir os efeitos negativos de oxidantes, radicais livres e microrganismos causadores de prejuízos nas indústrias alimentícias. O uso de metabólitos secundários de plantas vem crescendo e conquistando o mercado e a preferência dos consumidores por apresentarem benefícios à saúde, bem como menores impactos ao meio ambiente. Portanto, a pesquisa fitoquímica apresenta-se como um método útil, buscando técnicas analíticas e instrumentais que permitem o isolamento e elucidação de inúmeros compostos. Esses metabólitos possuem potencialidade para uso na indústria alimentícia (PEREIRA *et al.*, 2008) e na indústria de medicamentos.

3.6 *Rosa alba* L.

Conhecida popularmente por rosa branca, suas principais características são as folhas de cor verde azulado e as flores em tons pálidos entre o branco puro e o rosa claro (BRUNKE *et al.*, 1992) (FIG. 12).

O primeiro registro que se tem do contato humano com as rosas remonta a inscrições mesopotâmicas datadas de 5.000 a.C. A primeira imagem, no entanto, foi encontrada em uma moeda proveniente de uma tumba do povo Tsudi, nas montanhas da região Ártica, na Sibéria, datando de 4.000 a.C. A rosa branca foi a primeira rosa intensamente cultivada pelos gregos e romanos. Especula-se que seja

um cruzamento entre a rosa canina, selvagem na Europa, e a rosa damascena, dessa forma herdando as virtudes de ambas as espécies (ABURJAI, 2003).

Algumas variedades, como a *Rosa alba maxima* e a “Great Maiden’s Blush” possuem registro de cultivo de data anterior ao século XV.

Segundo Trovato *et al.* (2000), o óleo essencial de *Rosa alba* L. é constituído de citronelol, geraniol, nerol, linalol, citrol, carvacol e eugenol.

Fenner *et al.* (2006) citam que *Rosa alba* L. é conhecida popularmente pelas suas propriedades antissépticas.

De acordo com Reis (2007), o óleo essencial de *Rosa alba* L. apresenta excelente atividade antimicrobiana, *in vitro*, contra a levedura *Candida albicans*.

Conforme trabalho realizado por Reis (2008), o extrato aquoso de *Rosa alba* L. apresenta significativa inibição, *in vitro*, do crescimento dos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*.



FIGURA 12 - Flores e folhas de *Rosa alba* L.
FONTE: AQUIVO PRÓPRIO (2010).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

As pétalas de *Rosa alba* L. foram colhidas no município de Varginha, sul do estado de Minas Gerais, no período da manhã do dia 23 de setembro de 2010.

Uma exsicata foi depositada no Herbário da Unifenas sob o registro de número 834.

4.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

O óleo essencial das pétalas de *Rosa alba* L. foi extraído por hidrodestilação, usando um Aparelho de Clevenger (FIG. 13), que produz arraste dos óleos essenciais pelo vapor (REIS, 2007; SARTORELLI *et al.*, 2007; TUBEROSO *et al.*, 2006). Tal experimento foi realizado nos laboratórios da Universidade José do Rosário Vellano – Campi de Varginha – MG.

O cálculo do rendimento foi realizado pela relação entre a massa de óleo essencial recolhido e a massa de material vegetal utilizado na extração (REIS, 2007; FARAGO *et al.*, 2004).

O óleo extraído foi acondicionado em frasco de vidro estéril e mantido à temperatura ambiente até posterior inoculação ao meio de cultura (REIS, 2007).



FIGURA 13 - Aparelho de Clevenger para extração de óleo essencial.
FONTE: ARQUIVO PRÓPRIO (2010).

4.3 TESTES DE SUSCEPTIBILIDADE À AÇÃO ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL

4.3.1 Teste de difusão em ágar

A atividade antimicrobiana foi verificada usando o óleo essencial de pétalas de *Rosa alba* L., pelo método de difusão em ágar pela técnica “pour plate” (BOZZA, 2009), sobre as espécies de *Candida albicans* (ATCC 10231), *Microsporium nanum* (ATCC 11832), *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533), *Trichophyton rubrum* (ATCC 10218) e *Trichophyton tonsurans* (ATCC 10870); as cepas dos fungos filamentosos foram fornecidas pelo Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo (USP). Os microrganismos foram mantidos em Ágar Sabouraud - dextrose inclinada à temperatura ambiente.

4.3.1.1 Microrganismos e período de crescimento

Foram realizadas subculturas (repiques) dos microrganismos para um novo meio até alcançarem o período ideal para realização dos testes, ou seja, para se obter culturas jovens e em fase log de crescimento constituindo de micélio e conídios (NCCLS, 2002) (FIG. 14). O tempo aproximado de crescimento para posterior preparo do inóculo no teste de difusão em ágar foi de 48 horas para a levedura *Candida albicans* (ATCC 10231) e de 10 dias para os fungos leveduriformes: *Microsporum nanum* (ATCC 11832), *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533), *Trichophyton rubrum* (ATCC 10218) e *Trichophyton tonsurans* (ATCC 10870).



FIGURA 14 - Subculturas dos microrganismos *T. tonsurans* (ATCC 10870), *T. mentagrophytes* (ATCC 9533), *M. nanum* (ATCC 11832) e *T. rubrum* (10218), respectivamente, da

esquerda para direita (Colônia em Ágar Sabouraud - Dextrose a 2%, 25 °C, 10 dias).

FONTE: ARQUIVO PRÓPRIO (2010).

4.3.1.2 Preparo do inóculo, do meio de cultura e do controle

Solução salina a 0,9% esterilizada em autoclave foi utilizada para preparar os inóculos, os quais foram padronizados segundo solução padrão do tubo 0,5 da

escala McFarland, que corresponde a um inóculo de aproximadamente 10^6 unidades formadoras de colônias/mL (UFC/mL) (HADACEK & GREGER, 2000; RINALDI *et al.*, 2004; SAHIN *et al.*, 2004).

Na realização da técnica de “Pour Plate” foram adicionados à placa de Petri descartáveis e estéreis 2 mL da suspensão do microrganismo e 15mL de Ágar Sabouraud-dextrose a 50 °C; todo o sistema foi homogeneizado. Após solidificação do meio foram feitas duas cavidades no ágar, onde foram adicionadas 15µL de óleo essencial de *Rosa alba* L. em um orifício e 15µL de solução salina estéril (controle negativo) no outro orifício, com auxílio de um pipetador semiautomático (FIG. 15).

As placas contendo os fungos filamentosos foram incubadas de forma invertida, a 28 °C por 10 dias; e as placas contendo a levedura foram incubadas a 30 °C por 48 horas.



FIGURA 15 - Preenchimento dos orifícios no ágar com o óleo essencial.
FONTE: ARQUIVO PRÓPRIO (2010).

4.3.1.3 Leitura das placas e interpretação dos resultados

Passado o tempo de incubação, os halos de inibição tiveram seu diâmetro medido com paquímetro pelo fundo da placa (RASOOLI *et al.*, 2006; KONEMAN *et al.*, 2001). O grau de sensibilidade de cada amostra de fungo e da levedura foi

avaliado em função do diâmetro (mm) do halo produzido ao redor dos orifícios contendo óleo essencial de *Rosa alba* L.

Todos os testes foram feitos com n= 20 repetições.

Os dados obtidos foram tabulados e suas médias analisadas.

4.4 Análises Estatísticas

Foi realizada análise de variância (ANAVA) para variâncias desiguais. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os dados apresentaram distribuição de normalidade. As comparações de resultados foram submetidas ao teste de Tukey no nível de 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento da extração do óleo essencial

O rendimento (%) do óleo essencial extraído pela técnica de hidrodestilação foi de 0,35% (p/p).

Em estudos realizados por Reis (2007) foi obtido um rendimento de óleo essencial de pétalas de *Rosa alba* L. de 0,28%(p/p), cuja técnica de extração também foi a hidrodestilação.

Potzernheim *et al.* (2006) analisaram óleos essenciais de três espécies de *Piper* coletadas na região do Distrito Federal e os comparou com óleos de plantas procedentes da região de Paraty (R.J.). Observaram que o rendimento de óleo essencial de *Piper arboreum* subsp.*arboreum* foi de 0,3%, a hidrodestilação das folhas de *P. dilatatum* forneceu 0,4% de óleo essencial e a hidrodestilação das folhas de *Piper hispidum* teve rendimento de 0,3%.

A variabilidade na produção e teor de óleos essenciais é conhecida por ser afetada por fatores ambientais tais como luz, disponibilidade de nutrientes, estação do ano, período do dia, ciclo e parte da planta (CARVALHO - FILHO *et al.*, 2006), como também por fatores genéticos (TAVARES *et al.*, 2005).

Segundo Telles *et al.* (2009), o rendimento do óleo essencial extraído de folhas de *Mentha piperita* L. a partir de material fresco (1,25%) apresentou resultados superiores, comparados com secagem natural (0,65%) e secagem artificial (0,70%). Pode-se inferir que a produção de óleos essenciais nas folhas foi reduzida após os tratamentos pós-colheita, havendo maior rendimento de óleo na extração do material fresco.

Segundo Tuomi *et al.* (1991), a concentração de metabolitos secundários utilizados para defesa do vegetal tende a ter uma concentração inversa às taxas de crescimento, por ser este o “custo da defesa” das plantas, com o desvio de substancias que poderiam gerar açúcares, proteínas e gorduras para produção de metabolitos secundários.

O óleo essencial de *Piper aduncum* apresentou excelente rendimento (2,5 a 3,5%) e é rico em dilapiol (31,5 a 91,1%), um éter fenílico com elevado padrão de oxigenação. Este composto com grau de pureza de 99,0% (ALMEIDA *et al.*, 2004)

foi testado e comprovou ser o responsável pelas atividades fungicida, larvicida, inseticida e moluscicida (PERGENTINO *et al.*, 2008).

Em estudos realizados por Franco *et al.* (2005), o rendimento do óleo essencial de *Eucalyptus cinérea*, uma espécie aromática da família *Myrtaceae*, foi de 6,07 % (v/m), do qual grande parte foi extraída na primeira hora de hidrodestilação.

Em pesquisa realizada por Tavares *et al.* (2005) foi extraído o óleo essencial de folhas de *Lippia alba* (Mill) N. E. Br, cujo menor rendimento foi de 0,15% e o maior rendimento foi de 0,60%, observando-se que as plantas estavam em diferentes estágios, respectivamente em estágio de floração e estágio de crescimento vegetativo.

Resultados discrepantes foram observados por Gupta *et al.* (2002) em estudo com *Artemisia annua*, onde a maior porcentagem de óleo essencial foi obtida a partir de plantas em floração.

O rendimento do óleo essencial obtido a partir das partes aéreas secas de *M. divaricatum* foi $0,10 \pm 0,02\%$, indicando um baixo rendimento, o que é comumente observado na maioria das espécies medicinais (WAGNER *et al.*, 1984)

5.2 Testes com microrganismos

A síntese dos resultados dos testes com microrganismos se encontra na TAB. 1, onde estão registradas as médias das medidas dos halos de inibição de cada microrganismo frente ao óleo essencial. Não houve inibição com o controle (solução de cloreto de sódio a 0,9%).

TABELA 1

Médias aritméticas de 20 testes das medidas de halos de inibição de crescimento (mm) dos microrganismos *Candida albicans*, *Microsporium nanum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton tonsurans* testados frente ao óleo essencial de pétalas de *Rosa alba* L.

Microrganismos	Médias dos halos de inibição (mm)
<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	35,00 a
<i>Microsporium nanum</i> (ATCC 11832)	29,80 b
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> (ATCC 9533)	29,80 b
<i>Trichophyton rubrum</i> (ATCC 10218)	24,40 c
<i>Trichophyton tonsurans</i> (ATCC 10870)	21,85 c

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

D.M.S. 5% = 3,14 mm

As FIG. 16 a 20, a seguir, mostram os halos de inibição do crescimento dos microrganismos, como resultado da ação do óleo essencial testado.



FIGURA 16 - Halo de inibição por óleo essencial de pétalas de *Rosa alba* L. em placa de *T. mentagrophytes* (ATCC 9533).

FONTE: ARQUIVO PRÓPRIO (2010).

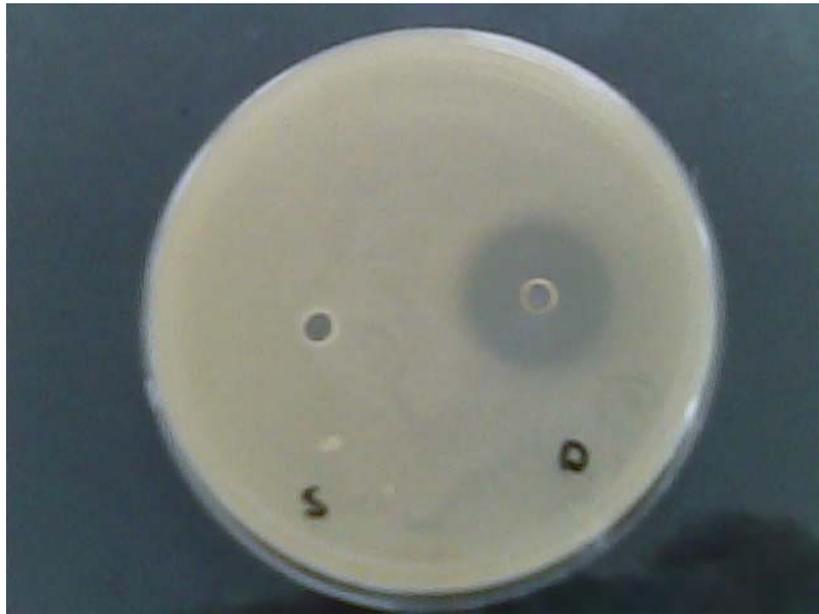


FIGURA 17 - Halo de inibição por óleo essencial de pétalas de *Rosa alba* L. em placa de *T. tonsurans* (ATCC 10870).
FONTE: ARQUIVO PRÓPRIO (2010).

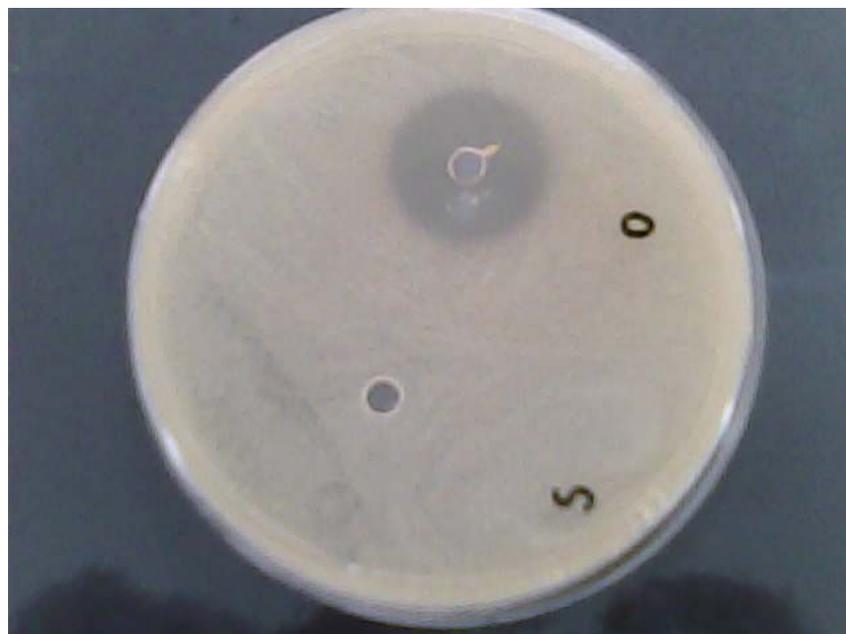


FIGURA 18 - Halo de inibição por óleo essencial de pétalas de *Rosa alba* L. em placa de *T. rubrum* (ATCC 10218).
FONTE: ARQUIVO PRÓPRIO (2010).

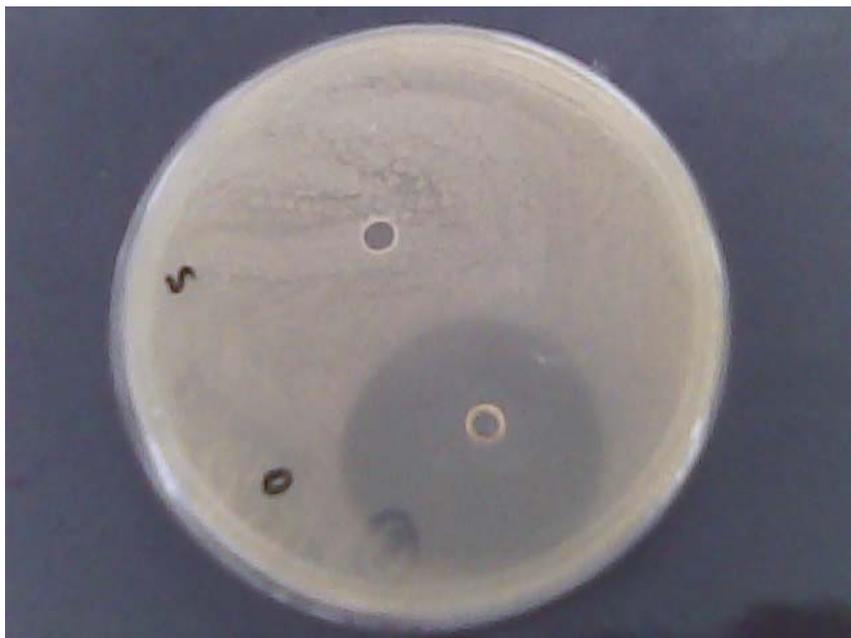


FIGURA 19 - Halo de inibição por óleo essencial de pétalas de *Rosa alba* L. em placa de *M. nanum* (ATCC 11832).
FONTE: ARQUIVO PRÓPRIO (2010).



FIGURA 20 - Halo de inibição por óleo essencial de pétalas de *Rosa alba* L. em placa de *Candida albicans* (ATCC 10231).
FONTE: ARQUIVO PRÓPRIO (2010).

Diante dos resultados obtidos, verificou-se uma variabilidade significativa na ação do óleo essencial de pétalas de *Rosa alba* L. em relação ao crescimento dos microrganismos *Candida albicans* (ATCC 10231), *Microsporum nanum* (ATCC 11832), *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533), *Trichophyton rubrum* (ATCC 10218) e *Trichophyton tonsurans* (ATCC 10870).

Em relação à inibição do crescimento dos microrganismos, observou-se maior atividade antidermatofítica do óleo essencial de pétalas de *Rosa alba* L. sobre a levedura *Candida albicans* (ATCC 10231), pois o mesmo se mostrou 14,86% mais ativo quando comparado com a inibição do crescimento de *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533) e *Microsporum nanum* (ATCC 11832), 30,29% mais ativo quando comparado com a inibição do crescimento de *Trichophyton rubrum* (ATCC 10218) e 30,50% mais ativo quando comparado com a inibição do crescimento de *Trichophyton tonsurans* (ATCC 10870).

As médias dos halos de inibição dos microrganismos *Trichophyton rubrum* (ATCC 10218) e *Trichophyton tonsurans* (ATCC 10870) não diferiram entre si no nível de significância de 5% pelo Teste de Tukey. O mesmo foi observado em relação aos microrganismos *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533) e *Microsporum nanum* (ATCC 11832).

Nos estudos realizados por Reis (2007), a levedura *Candida albicans* (ATCC 10231) apresentou maior inibição de seu crescimento quando testadas segundo à atividade do óleo essencial de pétalas de *Rosa alba* L.. Os resultados observados nesta pesquisa endossam estes dados.

Não foram localizados na literatura outros trabalhos disponíveis, que se propusessem a avaliar a susceptibilidade *in vitro* de dermatófitos em relação à ação do óleo essencial das pétalas de *Rosa alba* L., não havendo, portanto, parâmetros que permitissem outras análises comparativas dos dados obtidos no presente trabalho com dados obtidos de outros autores.

Cleff *et al.* (2010) avaliaram a ação *in vitro* do óleo essencial de *O. vulgare* contra *Candida* ssp. e demonstraram que todos os isolados testados foram sensíveis ao óleo.

As espécies *Lippia sidoides*, *Ocimum gratissimum*, *Lippia citriodora*, *Cymbopogon citratus* inibiram em 100% o crescimento micelial do fungo *C. gloeosporioides*, conforme pesquisa realizada por Souza Júnior *et al.* (2009).

Natarajan *et al.* (2003) utilizaram isolados clínicos de dermatófitos (*Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* e *Microsporum nanum*), os quais foram tratados com extratos, e verificaram que o óleo extraído das sementes de *Azadirachta indica* (neem) possui altas propriedades antidermatofíticas, sendo observadas grandes alterações no padrão de crescimento dos microrganismos testados. Esse achado reforça a utilização dos óleos essenciais como alternativas da medicina no tratamento de infecções por fungos dermatófitos.

Franco *et al.* (2005) realizaram testes de atividade antimicrobiana com o óleo essencial de *Eucalyptus cinérea*, utilizando os microrganismos *Staphylococcus aureus* (ATCC 6.538), *Escherichia coli* (ATCC 8.739), *S. epidermidis* (ATCC 12.228), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9.027) e *Candida albicans* (ATCC 10.231). As culturas microbianas foram padronizadas em 10^8 células/mL, estimadas por comparação ao tubo 0,5 da Escala de McFarland, sendo posteriormente inoculadas em meios de cultura para avaliação da atividade antimicrobiana. Foi observada potente atividade do óleo essencial em todas as amostras testadas.

Gadhi *et al.* (2001) investigaram a atividade antifúngica do extrato de folhas de *Aristolochia paucinervis* Pomel (Aristolochiaceae) sobre os microrganismos *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton violaceum*, *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes*, adotando o método de difusão em Agar. Os resultados mostraram que todas as frações apresentaram atividade antifúngica contra os fungos dermatófitos testados.

Park *et al.* (2007) realizaram estudos com o objetivo de investigar o potencial da utilização de óleos vegetais derivados de *Leptospermum petersonii* Bailey e *Syzygium aromaticum* L. Merr. Et Perry como antifúngicos naturais. Os fungos *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum* e *Microsporum gypseum* foram avaliados pelo método de difusão em ágar. Observou-se que o crescimento de hifas foi completamente inibido em *T. mentagrophytes*, *T. rubrum* e *M. gypseum* pelo tratamento com óleo essencial de cravo. Comparando os resultados destes estudos com os apresentados neste trabalho pode-se observar a susceptibilidade dos microrganismos dermatófitos quando expostos aos óleos essenciais.

Estudos realizados por Romagnoli *et al.* (2010) propuseram avaliar a atividade antifúngica do óleo essencial dos frutos de *Cuminum cuminum* L. (*Apiaceae*), utilizando doses de 5-20 μ L de óleo essencial puro. Os ensaios antifúngicos mostraram que *Cuminum cuminum* L. apresenta atividade, em geral, em todos os fungos, mas em especial sobre os dermatófitos, onde *Trichophyton rubrum* foi o mais inibido e na menor dose (5 μ L).

Zuzarte *et al.* (2009) investigaram a atividade antifúngica do óleo essencial de *Lavandula pedunculata* (Miller) Cav. e verificaram que os óleos essenciais também foram isolados por hidrodestilação e a atividade antifúngica do óleo essencial foi significativa contra as cepas de dermatófitos. Tais dados corroboram os resultados encontrados nesta pesquisa.

Conforme Bajpai *et al.* (2009) o óleo *Nandina domestica* Thunb. e os seus extratos podem ser fontes potenciais de fungicidas naturais para controle de alguns importantes fungos dermatófitos, tais como *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*, *Microsporum canis*, que apresentaram germinação de esporos inibidas pelo óleo essencial.

De acordo com os resultados obtidos no trabalho de Pelissari *et al.* (2010) apenas as espécies Gram-positivas (*S. aureus* ATCC 25923 e *B. subtilis* ATCC 9372) mostraram-se sensíveis ao óleo essencial de *Melampodium divaricatum* (Rich) DC, e as demais espécies testadas (*Escherichia coli* (ATCC 25922), *Proteus mirabilis* (ATCC 25933) e as cepas de campo *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei* e *Serratia marcescens* não tiveram seu crescimento inibido.

O óleo essencial de pétalas de *Rosa damascena* foi avaliada por seus efeitos antibacterianos contra três cepas de *Xanthomonas axonopodis* spp. *vesicatoria*. Nowak (2005) cita que tal óleo essencial pode ser um potencial agente de controle na gestão da doença causada pela *X. vesicatoria* em plantas de tomate e pimenta.

Nesta perspectiva, muitos estudos têm sido realizados com ênfase na busca de novos produtos naturais ou sintéticos possuidores de atividade antimicrobiana atrelada a uma menor toxicidade ao hospedeiro.

Os resultados desta pesquisa fornecem valor científico e confirmam que os óleos essenciais podem ser úteis no tratamento de infecções por dermatófitos, justificando estudos clínicos para validar seu uso como alternativas terapêuticas às drogas sintéticas no tratamento de dermatofitoses. Os dados obtidos são significativos, porém demandam a continuação e aprofundamento dos estudos.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho confirmam o potencial antifúngico do óleo essencial de *Rosa alba* L., *in vitro*, sobre o crescimento microbiano de leveduras *Candida albicans* (ATCC 10231) e fungos leveduriformes *Microsporum nanum* (ATCC 11832), *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533), *Trichophyton rubrum* (ATCC 10218) e *Trichophyton tonsurans* (ATCC 10870).

REFERÊNCIAS

ABURJAI, T. *et al.* Plants used in cosmetics. **Phytotherapy Research**, Egypt, v.17, n.9, p. 987-1000, 2003.

AGARWALLA, A; AGRAWAL, S; KHANAL, B. Onychomycosis in eastern Nepal. **Nepal Med Coll J.**, n.8,v.4, p. 215-219, 2006.

AJELLO, L. Present day concepts of the dermatophytes. In:__. **Mycopathologia**. Atlanta: [s.n.], 1962. p. 315-324.

ALJABRE, S.H.M. *et al.* Germination of *Trichophyton mentagrophytes* on human stratum corneum in vitro. **J Med Vet Mycol.**, n.30, p.145-152, 1992.

ALLAN, P.; BILKEI, G. Oregano improves reproductive performance of sows. **Theriyogenology**, v.63, p.716-721, 2005.

ALMEIDA, R.R.P. **Isolamento, purificação e isomerização do dilapiol, componente majoritário do óleo essencial de *P. aduncum* para comprovação de sua atividade biológica.** 2004. 198f. Dissertação (Mestrado em Química - Universidade Federal do Pará, Belém), 2004.

ALMEIDA, L. M. M. *et al.* Resposta *in vitro* de fungos agentes de micoses cutâneas frente aos antifúngicos sistêmicos mais utilizados na dermatologia. **An Bras Dermatol**, v.84, n.3, p. 249-255, 2009.

ANTUNES, A. G. V.; PASQUALOTTO, A. C.; SEVERO, L. C.. Candidemia in a Brazilian tertiary care hospital: species distribution and antifungal susceptibility patterns. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.46, p.239-241, 2004.

APODAGA, G; MCKERROW, J. H. Regulation of *Trichophyton rubrum* proteolytic activity. **Infect. Immun.**, v. 57, p. 3081–3090, 1989.

AQUINO, V. R.; CONSTANTE, C. C.; BAKOS, Lucio. Frequência das dermatofitoses em exames micológicos em Hospital Geral de Porto Alegre, Brasil. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, May/ June, v.82, n.3, p. 239-244, 2007.

ARORA, D. K.; AJELLO, L.; MUKERJI, K. G.. **Handbook of Applied Mycology: Humans, Animals and Insects**. New York: Mercel Dekker Inc, 1991. v.2, 783 p.

BAJPAI, V.; NGUYEN, T. D.; SUH, H.J. *et al.* Antifungal potential of essential oil and various organic extracts of *Nandina domestica* Thunb. against skin infectious fungal pathogens. **Appl Microbiol Biotechnol**, v.83, n.6, p.1127-1133, Jul. 2009.

BARANOVÁ, Z *et al.* Zoophilic dermatomycosis in a family caused by *Trichophyton mentagrophytes* var. *quinckeanum* – A case report. **Acta Vet. Brno**, v.72, p.311-314, mar. 2003.

BERTINI, K.M. *et al.* Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. **Rev. Infarma**, v.17, n.3-4, p.80-83, 2005.

BONCOMPETE, E. *et al.* Contribution al estudio de las dermatomycosis en Cataluña. **Revista Iberoamericana Micología**, v.14, p.26-28, 1997.

BOZZA, A. *et al.* Isolamento de fungos associados a grãos de café cv. Iapar 59 de origem de solo e árvore em diferentes tempos de colheita. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, Campinas, v.29, n.3, 2009.

BRASIL. RDC nº 89, de 16 de março de 2004. Determina a publicação da lista de registro simplificada de fitoterápicos. Disponível em: <http://elegis.bvs.br/leisref/public/search.php>. Acesso em: 24 agosto. 2010. BRASIL, Ministério da Saúde. Secretária de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 60p.

BRILHANTE, R.S.N. *et al.* Onychomycosis in Ceará (Northeast Brazil): epidemiological and laboratory aspects. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.100, n.2, p. 131-135p, 2005.

BRITO, E.H.S. *et.al.* Phenotypic characterization and in vitro antifungal sensitivity of *Candida* spp. and *Malassezia pachydermatis* strains from dogs. **The Veterinary Journal**,v.174, p.147–153, 2007.

BRUNKE, E. J.; HAMMERSCHMIDR, F. J.; SCHMAUS, G.. Scent of roses-recent results. **Flavour and fragrance Journal**, Egypt, v.7, n.4, p.195-198, 1992.

CABAÑES, F. J. Dermatofitosis animales. Recientes avances. **Revista Iberoamericana de Micología**, v.17, p.8-12, 2000.

CABO, G. J. F. *et al.* Dermatophytosis of pigs by *Trichophyton mentagrophytes*. **Mycopathologia**, The Hague, v. 101, p. 161-164, 1988.

CALVO, M.C.R. *et al.* Micosis más frecuentes en nuestro medio. **Revista Iberoamericana de Micología**, v.2, p.1-15, 2002.

CAMERON, R.D.A. Diseases of the skin. **In: Diseases of Swine**. 8th.Ed. USA: Iowa State University Press, 1999. p. 941-958.

CAMPOS, S.G. *et al.* Fungos isolados de lesões características de micose em animais de 1995 a 2000 no Instituto de Veterinária da UFRRJ. **In: CONBRAVET**, 2001, 28, Salvador, 2001, p.202.

CANTOS, E. *et al.* Effect of postharvest ultraviolet irradiation on resveratrol and other phenolics of cv. Napoleon table grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p. 4606-4612, 2000.

CARDOSO, M. G.; SHAN, A. Y. K. V.; SOUZA, J. A. de. Fitoquímica e química de produtos naturais. Lavras – MG: UFLA/FAEPE, 2001. 67 p. (Textos Acadêmicos).

CARMO, E.S.; LIMA, E.O.; SOUZA, E.L. The potential of *origanum vulgare* L. (Lamiaceae) essential oil in inhibiting the growth of some food-related *Aspergillus* species. **Braz. J. Microbiol.**, v.39, p.362-367, 2008.

CARVALHAES, J. **Micologia médica**. Rio de Janeiro: Control Lab. 2000.

CARVALHO – FILHO, J.L.S. *et al.* Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. **Rev Bras Farmacognosia**, v.16, p.24-30, 2006.

CARVALHO, C. S. **Description study of Onychomycosis in the Dermatology. Dep. Santa Casa de Sao Paulo in the period January 2002 to December 2006**. 2010. 90f. Dissertação (Mestrado): Ciências da Saúde - Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – SP, 2010.

CASTILLEJOS, L. *et al.* Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system. **Animal Feed Science Technology**, v.41, p.119-129, 2005.

CAVALCANTI, M. P. *et al.* Frequência de dermatófitos e fungos saprófitas em caninos e felinos com sintomatologia sugestiva de dermatopatia micótica atendidos no Hospital Veterinário da UFRPE. **Clínica Veterinária**, n. 3, p. 24-28, 2003.

CHAGAS, A.C.S. **Efeito acaricida de produtos naturais e sintéticos de plantas e solventes sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887)**. 2001. 58f. Tese (Doutorado em Veterinária). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2001.

CHAMI, N. *et al.* Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. **Braz. J. Infec. Dis.**, v.8, p.217-226, 2004.

CHAMPE, P. C; HARVEY, R. A; FISHER, B. D. **Microbiologia ilustrada**. 2. ed. São Paulo: Artmed, 2008. 436 p.

CHENG, S.L. Y.; ALLEJO, L.. The perfect state of *Trichophyton mentagrophytes*. **Sabouraudia**, v. 5, n.3, p. 230-234, 1967.

CHIMELLI, P. A. V. *et al.* Agentes de dermatofitoses na Cidade de São Paulo no período de 1992 e 2002. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, v.45, n.5, p. 259-263, 2003.

CLEFF, M. B. *et al.* Isolation of *Candida* spp from vaginal microbiota of healthy canine females during estrous cycle. **Braz. J. Microbiol.**, v.32, p.201-204, 2005.

CLEFF M. B. *et al.* Candidíase cutânea em *Cebus apella* (Macaco-prego). **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.3. p.791-795, 2008.

CLEFF, M.B. *et al.* In vitro activity of *Origanum vulgare* essential oil against *Candida* species. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 116-123, 2010.

COELHO, A.C. *et al.* **Isolamento laboratorial de *Trichophyton mentagrophytes* e *Microsporium gypseum* em coelhos**. In: SYMPOSIUM DE ASESCU – ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE CUNICULTURA, 32, 2007, Rioja - Spain. **Anais...** Rioja – Spain, 2007.

COSTA, E.O.; COUTINHO, S.D.; TEIXEIRA, C.M. *et al.* Dermatose por *C. albicans* em cão. **Rev. Microbiol.**, v.16, p.113-116. 1985.

COSTA, E.F. Micoses superficiais e cutâneas. Estudo comparativo entre duas populações: Rio de Janeiro (RJ) e Aracaju (SE). **An Bras Dermatol**, v.66, n.3, p.119-22, 1991.

COSTA, M. *et al.* Epidemiologia e etiologia das dermatofitoses em Goiânia, GO, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, n. 1, p. 19-22, 2002.

DE GÁSPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N.; PRADO, M.R.M. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebenthifolius* Raddi. **Cienc. Agrot**, Lavras, v.29, n.3, p. 617-622, 2005.

DEALCANFREITAS, I. D.; RIBEIRO, K. C. S. R. *et al.* The etiopathogenesis and treatment of the dermatophytosis. **Rev. Med. Ana Costa**, v.10, n.4, p. 66-69, Out/dez. 2005.

ELEWSKI, B.E. Onychomycosis: pathogenesis, diagnosis, and management. **Clinical Microbiology Reviews**, v.11, n.3, p. 415-419, 1998.

FARAGO, P. V. *et al.* Atividade antibacteriana de óleos essenciais de *Ocimum Selloi* Benthil. (Lamiaceae). **UEPG Ci. Biol. Saúde**, Ponta Grossa, v.10, n. 3, p. 59-63, set/dez. 2004.

FAZOLIN, M. *et al.* Avaliação de plantas com potencial inseticida no controle da vaquinha-do-feijoeiro (*Cerotoma tingomarianus* Bechyné). **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento: Embrapa**, Rio Branco – Acre, n.37, p.1-42, 2002.

FELTRIN, E.P.; CHORILLI. Extratos Secos Padronizados: Tendência Atual em Fitoterapia. **Rev. Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde**, v.7, n. 1, p. 109-115, 2010.

FENNER, R. *et al.* Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 3, p. 369 – 394, jul./set. 2006.

FERNANDES, F.C.; WILDNER, S.M.; FURLANETTO, A.L. Possíveis infecções ocupacionais em tratadores de suínos. **Arq. Catarinenses de Medicina**, v.35, n.3. 2006.

FERNANDES, J. M. *et al.* Efeito de soluções de origem vegetal na herbivoria de duas espécies de tanchagem (*Plantago major* L. e *Plantago lanceolata* L.). **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v.6, n.2, p.35-41, 2006.

FERREIRO, L. *et al.* Principais micoses dos suínos. **Acta scientiae Veterinariae**, v.35, p.S113-S120, 2007. (Suplemento).

FRANCO, J.; NAKASHIMA, T.; FRANCO, L. *et al.* Composição química e atividade antimicrobiana *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus cinerea* F. Mull. ex Benth., Myrtaceae, extraído em diferentes intervalos de tempo. **Rev. bras. Farmacogn**, v.15, n.3, p. 191-194, 2005.

GADHI, C.A. *et al.* Antidermatophytic properties of extracts from the leaves of *Aristolochia paucinervis* Pomel. **Phytother Res**, v.15, n.1, p.:79-81, 2001.

GARCÍA-SÁNCHEZ, A. *et al.* Outbreak of ringworm in a traditional Iberian pig farm in Spain. In: **Mycoses: Diagnosis, Therapy and Prophylaxis of Fungal Diseases**. [s.l.: s.n.], 2009.

GINTHER, O.J. Diagnosis of *Microsporium nanum* infection in swine. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.148, p.1170-1176, 1966.

GIORDANI, R. *et al.* Antifungal effect of various essential oils against *C. albicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. **Phytot. Res.**, v.18, p.990-995, 2004.

GOMIDES, M.D.A. *et.al.* Dermatoses em pacientes com AIDS: estudo em 55 casos. **Rev Assoc. Med. Bras**, v.48, n.1, p.36-40, 2002.

GUARRO, J. GENÉ, J., STCHIGEL, A. M. Developments in Fungal taxonomy. **Clinical Microbiology Reviews**, v.12, p.454-500, 1999.

GUILLOT, J. ; CHERMETTE, R.C. Mycoses à levures. In : LEFÈVRE, P.-C. Principales Maladies Infectieuses et Parasitaires du Bétail. Paris : Editions TEC & DOC, 2003. p.1.189-1.214.

GUPTA, S.K. *et al.* Morphogenetic variation for artemisin and volatile oil in *Artemisia annua*. **Ind Crop Prod**, v.16, p. 2.217- 2.224, 2002.

GURTLER, T.G.R.; DINIZ, L.M.; NICCHIO, L. Microepidemia de tinha do couro cabeludo por *Microsporum canis* em creche de Vitória - Espírito Santo (Brasil). **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v.80, n.3, p. 267 – 272, 2005.

HADACEK, F.; GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. **Phytochemical Analysis.**, v.11, n. 3, p. 137-147, 2000.

HAINER, B.L. Dermatophyte Infections. **Am. Fam. Physical**, v.67, n.1, p.101-108, 2003.

HASHIMOTO, T.; WU-YUAN, C.D; BLUMENTHAL, J.H.. Isolation and characterization of the rodlet layer of *Trichophyton mentagrophytes* microconidial Wall. **J Bacteriol**, v.127, n.3, p. 1543–1549, 1976.

HERNÁNDEZ, F. *et al.* Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. **Poultry Science**, v.83, p.169-174, 2004.

HIBBETT , D.S. *et al.* A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. **Mycological Research**, v.111, p.509-547, 2007.

HOOG, G. S., GUARRO, J., GENÉ, J., FIGUERAS, M. J. **Atlas of Clinical Fungi**, Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2000.

HOUCK, H. E. *et al.* Tinea caput medusa: an unusual presentation of *Trichophyton mentagrophytes* on the scalp. **Cutis**, v. 58, n. 1, p. 48-52, 1996.

JACOBSON, T. K. *et al.* Influência de fatores edáficos na produção de fenóis totais e taninos de duas espécies de barbatimão. **Rev Pesquisa Agropecu Trop**, v.35, n.3, p.163-169, 2005.

JESUS, D. N. C.. **Avaliação dos efeitos da adição do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) na dieta, sobre a fisiologia e a produtividade de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*)**. 2007. 106f. Dissertação de Mestrado em Ciências Agrárias – Universidade de Brasília – D.F., 2007.

JOUSSON, O. *et al.* Multiplication of an ancestral gene encoding secreted fungalysin preceded species differentiation in the dermatophytes *Trichophyton* and *Microsporum*. **Microbiology**, v.150, p. 301-310, 2004.

KLEIN, T.; *et al.* Fitoterápicos: um mercado promissor. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, v. 30, n.3, p.:241-248, 2010.

KONEMAN, E. W. **Diagnóstico Microbiológico: texto e Atlas Colorido**. 5. ed., Rio de Janeiro: MEDSI, 2001. p. 361 e 828.

KONEMAN, E. W. **Diagnóstico Microbiológico: texto e Atlas Colorido**. 6. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p.1180-1184.

LACAZ, C.S. *et.al.* Dermatophytosis caused by *Trichophyton raubitschekii* . Report of the first case in Sao Paulo, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**. v.41, n.5, p.313-317, 1999.

LACAZ, C. S. *et al.* **Tratado de micologia médica**. 9. ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

LACAZ, C. S.. Micoses In: VERONESI, R. **Doenças Infecciosas e Parasitárias**. 6ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1989.

LARONE, D. H. **Medically important fungi: a guide to identification**. 3. ed. Washington, D.C.: ASM Press, 1995.

LEAL, A. F. G. *et al.* Correlação epidemiológica entre fungos queratinofílicos isolados do solo e agentes de dermatomicoses. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.42, n.4, p.471-473, jul-ago. 2009.

LEON-MATEOS, A. *et al.* Study of the ITS region in an atypical isolate and comparison with six species of *Microsporum*. **Mycoses**, v.49, n.6, p.452-456, nov. 2006.

LIMA, G.J.M.M.; RUTZ, F.; BORGES, S.A. *et.al.* Efeito da adição de um composto de ervas naturais como promotor de crescimento de dietas de suínos em crescimento e terminação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUINOS, 10., Foz do Iguacu, 2001. **Resumos**. Foz do Iguacú: ABRAVES, 2001.P.323-324.

LONDERO, AT.; BENAVENTA, J. P. Human infection by *Microsporium nanum* in Brazil. **R. Inst. Med. Trop.**, v.14, p.388-391, 1972.

LONG, J.R.; BRANDENBURG, A.C.; OLIVER, P.G. *Microsporium nanum*: a cause of porcine ringworm in Ontario. **Can. Vet. Jour.**, v.13, n.7.p.164-66, 1972.

LOPES, J.O.; ALVES, S.H.; MARI, C.R.D. *et al.* A ten-year survey of onychomycosis in the Central Region of the Rio Grande do Sul, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop.**, São Paulo, v.41,p.147-149, 1999.

LOPEZ-MARTINEZ, R. *et al.* Exoenzimas de dermatofytes isoladas e crônica tinea aguda. **Rev Latinoam Microbiol**, v.36, p.17-20,1994.

MARTINI, J.P.; SOUZA L.C.; COSTA, H.C. Dermatofitos isolados em pacientes do Hospital "Lauro de Souza Lima" Bauru- SP. **Salusvita**, v.6, n.1, p.1-6, 1987.

MATTÊDE, M.G.S *et al.* Etiologia das dermatofitoses em Vitória (ES). **Anais Brasileiros Dermatologia**, v.61, n.4, p.177-182, 1986.

MEINERZ, A.R.M. *et al.* Esporotricose felina, micose de interesse em saúde pública. **Rev. Bras. Med. Vet**, v.29, p.174-176, 2007.

MÓS, E.N.; PAULA, C.R.; MOTT Jr., L. Dermatomicose por *Microsporium nanum* em criação de suínos. **Rev. Fac. Med. Vet. Zoot., USP**, v.15, n.2, p.159-160, 1978.

MUELLER, R.S.; BETTEMAY, S.V.; SHIPSTONE, M. Cutaneous candidiasis in a dog caused by *Candida guilliermondii*. **Veterinary Record**, v.150, p. 728-730, 2002.

NATARAJAN, V.; VENUGOPAL, P.V.; MENON, T. Effect of *Azadirachta indica* (neem) on the growth pattern of dermatophytes. **Indian J. Med. Microbiol**, v. 21, n.2, p.98-101, 2003.

NCCLS. **Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras**; Norma Aprovada—Segunda Edição. Norma M27-A2 do NCCLS (ISBN 1-56238-469-4). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 Estados Unidos, 2002.

NEGRONI, R. Historical aspects of dermatomycosis. **Clinics in Dermatology**, v. 28, n. 2, p. 125-132, 2010.

NEUFELD, P. M.. Dermatofitose: etiologia e patogenia / Dermatophytosis: etiology and pathogenesis . **Rev. bras. anal. clin**, v.32, n.2, p.59-64, 2000.

NICARETA, C.. **Óleos essenciais de *Solanum* e a interação com morcegos frugívoros**. 2006. 77f. Dissertação (Mestrado em Química). Setor de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná – PR, 2006.

NOGUEIRA, R.C.; CERQUEIRA, H.F.; SOARES, M.B.P. Patenting bioactive molecules from biodiversity: the Brazilian experience. **Expert Opinion Ther. Patents**, v. 20, n.2, p.1-13, 2010.

NOWAK, R. Chemical composition of hips essential oils of some *Rosa* L. species.. **Naturforsch C**, v.60, n.5-6, p.369-378, 2005.

ODDS, F.C. **Candida and Candidosis**. 2. ed. London: Bailliere Tindall, 1988.

OKSMAN- CALDENTY, K.; INZÉ, D. Plant cell factories in the post-genomic era: new ways to produce designer secondary metabolites. **Trend in Plant Science**, v.3,n.9, p.433-440, 2004.

OLIVEIRA, C., J. **Micologia Médica**. Rio de Janeiro: Ed. Control-Lab, 1999. 43p.

OLIVEIRA, C.M.A. *et al.* Antifungal properties of brazilian cerrado plants. **Braz. J. Microbiol**, São Paulo, v.33, n.3, p. 247-249, jul/set. 2002.

OUTERBRIDGE, C. A. Mycologic disorders of the skin. **Topics in Companion Animal Medicine**, v.21, n.3, p.128-134, 2006.

OYEKA, C. A. *Trichophyton mentagrophytes*: a keratinophilic fungus. In.: Biology of dermatophytes and other keratinolytic fungi. **Revista Iberoamericana de Micologia**, Bilbao, v.17, p. 60-65, 2000.

PADILLA, A. *et al.* Clinical and epidemiological survey of dermatophytosis in Jaen (Spain). **Revista Iberoamericana de Micologia**, v.19, p.36-39, 2002.

PAIXÃO, G.G. *et al.* Dermatofitos e fungos sapróbios isolados de cães e gatos na cidade de Fortaleza. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v.53, n.5, p.568-573, 2001.

PARK, M.J. *et al.* Antifungal activities of the essential oils in *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et Perry and *Leptospermum petersonii* Bailey and their constituents against various dermatophytes. **J Microbiol**, v.45, n.5, p.460-465, Oct. 2007.

PAULA, J. F. P. **Estudo da ação repelente do óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth Contra o *Anopheles braziliensis* Chagas.** 2002. 80f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, PR, 2002.

PEDROSO, A.A. *et al.* Variabilidade Espacial da Comunidade Bacteriana Intestinal de Suínos Suplementados com Antibióticos ou Extratos Herbais. **Ver. Bras. Zootec.**, v.34, n.4, p.1225-1233, 2005.

PELISSARI, G.P.; PIETRO, R.C.L.R.; MOREIRA, R.G.D. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Melampodium divaricatum* (Rich.) DC., Asteraceae. **Rev. Bras. Farmacogn**, v.20, n1, p.70-74, jan./mar. 2010.

PEREIRA, D.B.; MEIRELES, M.C.A. **Doenças causadas por fungos e oomycetos: Dermatofitoses.** In: RIET-CORREA, F. *et al.* Doenças de Ruminantes e Eqüinos. São Paulo: Varela. 2001, cap.4 e 2, p. 367 - 373. ed., v. 1, p. 367-373.

PEREIRA, D. I. B. *et al.* Dermatophytosis of pigs caused by *Trichophyton mentagrophytes* – A case report. **Rev. FZVA.** v.11, n.1, p.140-145, 2004.

PEREIRA, A. A.; CARDOSO, M G.; ABREU, L. R. de *et al.* Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Ciênc. Agrotec**, v.32, n.3, p.887-893, maio-jun. 2008.

PERGENTINO, J.C.S.; BARROS, C.A.L.; ROCHA, J.C.S. *et al.* Avaliação toxicológica do óleo essencial de *Piper aduncum* L. **Rev. Bras. Farmacogn**, v.18, n.2, p.217-222, 2008.

PINTER, L.J.; STRITOF, Z. A retrospective study of *Trichophyton mentagrophytes* infection in dogs (1970-2002). **Veterinarski Arhiv**, v.74, p. 251-260, 2004.

POSTERARO, B., TUMBARELLO, M., LA SORDA, M. *et al.* Azole resistance of *Candida glabrata* in a case of recurrent fungemia. **Journal of Clinical Microbiology**, v.44, p.3046-3047, 2006.

POTZERNHEIM, M.C.L.; BIZZO, H.R.; VIEIRA, R.F. Análise dos óleos essenciais de três espécies de *Piper* coletadas na região do Distrito Federal (Cerrado) e comparação com óleos de plantas procedentes da região de Paraty, RJ (Mata Atlântica). **Rev. Bras. Farmacognosia**, v.16, n.2, p. 246-251, 2006.

PRESTES, L.S. *et al.* Actividad de extractos de orégano y tomillo frente a microorganismos asociados con otitis externa. **Rev. Cubana Plant. Medic.**, v.13, p.4-8, 2008.

RAMIREZ, L.S.; DIAZ, H.E. Actividad antibacteriana de extractos y fracciones del ruibarbo. **Scientia et Technica**, v.13, n. 33, p.397-400, 2007.

RAND, S. Overview: The treatment of dermatophytosis. **Journal of American Academy of Dermatology**, v. 43, p. S104-112, 2000.

RASOOLI, I.; REZAEI, M. B.; ALLAMEH, A.. Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*. **Int. J. Infect Dis.**, Iran, v.10, n.3, p. 236 – 241, jan. 2006.

RATES, S. M. K. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, n. 2, p. 57-69, 2001.

RAUHA, J.P. *et al.* Antimicrobial effects of finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. **Int. J. Food Microbiol**, v.56, n.1, p. 3-12, 2000.

REIS, Y.P.B. **Efeitos in vitro dos óleos essenciais de *Rosa alba* L., *Ruta graveolens* L e *Salvia officinalis* L. sobre o crescimento de *Candida albicans*, *E. coli* e *S. aureus*.** 2007. 55f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Saúde) – UNINCOR, Três Corações – MG, 2007.

REIS, Y.P.B.; CARVALHO, A.H.O.; NUNES, N.S.O. *et al.* Verificação de atividade antimicrobiana de Extratos de Plantas Silvestres. **Revista Eletrônica de Biologia**, v. 1, n. 3, p. 2-7, 2008.

RINALDI, M. G.; GHANNOUM, M.A.; CHATURVEDI, V. *et al.* Intra- and interlaboratory study of a method for testing the antifungal susceptibilities of dermatophytes. **J Clin Microbiol**, v.42, n. 7. p. 2.977– 2.979, 2004.

RIPPON, J.W. **Micologia Médica**. 3. ed. Philadelphia, E.U.A.: WB Saunders Co., 1988.

RODRIGUEZ, J.M.T.; JODRA, O.L. Epidemiology of nail infection due to keratinophilic fungi. **Rev. I Am. Micol**, v.17, p.122-135, 2000.

ROMAGNOLI, C; ANDREOTTI, E.; MAIETTI, S. *et al.* Antifungal activity of essential oil from fruits of Indian *Cuminum cyminum*. **Pharm Biol**, v. 48, n.7, p.834-838, 2010.

RUIZ, L. R. B; ZAITZ, C. Dermatofitos e dermatofitoses na cidade de São Paulo no período de agosto de 1996 a julho de 1998. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.76, n. 4, p. 391-401, 2001.

RUSENOVA, N.; PARVANOV, P. Antimicrobial activities of twelve essential oils against microorganisms of veterinary importance. **Trakia J. Sci.**, v.7, p.37-43, 2009.

SAHIN, F. *et al.* Biological activities of the essential oil and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. **Food Control**, v.15,n.7, p.549-557, 2004.

SALEBIAN, A.; LACAZ, S.C. Isolamento de Dermatofitos de pêlos de animais silvestres . **An . Bras Derm**, n. 55, p.125 – 130, 1980.

SANDANI, P. DYKES, J. NARK, R. A proteo-atividade lítica de cepas de *T. mentagrophytes* e *T. rubrum* isolados de *Tinea pedis* e *Tinea unguium* infecções. **J Med Vet Mycol**, v.33, p.167-170, 1995.

SANTOS, D. A.; HAMDAN, J. S. Evaluation of broth microdilution antifungal susceptibility testing conditions for *Trichophyton rubrum*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 4, p. 1917-1920, 2005.

SANTOS, A. R. C. *et al.* **Avaliação da susceptibilidade de cepas de *Trichophyton sp* frente a betametasona e ao cetoconazol**. In: CONGRESSO INTERNO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNICAMP, 17, 2009, Fortaleza. **Anais ...** Campinas: Unicamp, 2009. p.23.

SANTOS, C. H. B.; *et al.* Rendimento do óleo essencial de *Mentha piperita* (L.) cultivadas nas condições do município de Santo Antonio de Jesus – BA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL. 12, 2009, Fortaleza. **Anais...**Fortaleza, 2009. p.183-188.

SANTOS, C.C.G. *et al.* **Fatores de Virulência do Gênero *Trichophyton***. Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte, 2006. Disponível em: <http://www.medstudents.com.br/content/resumos/resumo_medstudents_20070131_04.doc> Acesso em: 10 de maio 2010.

SARTORELLI, P.; MARQUIORETO, A.D.; AMARAL-BAROLI, A.; LIMA, M.E.; MORENO, P.R. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from two species of *Eucalyptus*. **Phyther Res**, v. 21, n.3, p.231-233, 2007.

SAUNTE, D.M. *et.al.* In Vivo Efficacy and Pharmacokinetics of Voriconazole in an Animal Model of Dermatophytosis. **Antimicrob Agents Chemother**, v.51, n.9, p.3317–3321, 2007.

SHAHI, SK. *Et al.* Broad spectrum herbal therapy against superficial fungal infections. **Skin Pharmacol Appl Skin Physiol**, v.13,n.1, p. 60-64, 2000.

SIDRIM, J.J.C.; MOREIRA, J. L. B. **Fundamentos Clínicos e Laboratoriais da Micologia Médica**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1999. p.107- 131.

SIDRIM, J.J.C. ; ROCHA, M.F.G. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p.388.

SILVA, F.; CASALI, V. W. D. **Plantas Medicinais e Aromáticas: pós – colheita e óleos essenciais**. Viçosa. MG: UFV, 2000. 135p.

SMITH, E. B. Treatment of dermatophytosis: Safety considerations. **Journal American Academy of Dermatology**, v.43, p.113-119, 2000.

SOBESTIANSKY, J.; WENTZ, I.; SILVEIRA, P.R. **Clínica e Patologia Suína**. 2 ed. Goiânia: Gráfica Art3, 2001. 463p.

SOUZA, F.H.C.; FERNANDES, N.C. *Tinea capitis* por *Trichophyton tonsurans* em crianças:papel dos portadores assintomáticos. **An bras Dermatol**, Rio de Janeiro, v.76, n.2, p.179-186, 2001.

SOUZA-JUNIOR, I.T.; SALES, N.L.P.; MARTINS, E.R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Biotemas**, v.22, n.3, p. 77-83, 2009.

SOUZA, T. M. P. & CONCEIÇÃO, D.M. **Atividade antimicrobiana do alecrim *Rosmarinus officinalis* L.** IN: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO – SIICUSP, 15, 2010, São Paulo. **Anais...** São Paulo: USP, 2010.p. 19-23.

SUMMERBELL, RC. Epidemiology and ecology of onychomycosis. **Dermatology**, v.194, p.32-36, 1997. (Suplemento 1).

SUMMERBELL, RC. Form and function in the evolution of dermatophytes. In: Kushwaha RKS, Guarro J, editors. Biology of dermatophytes and other keratinophilic fungi. **Revista Iberoamericana de Micología**, Bilbao, v.17, p. 30–43, 2000.

TAKAHASHI, I. Current types of human dermatophytosis transmitted from animals. **Nihon Ishinkin Gakkai Zasshi**, Tokyo, v.44, n.4, p.245-247, 2003.

TAIZ, L., ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.95-113.

TAVARES, E.S. *et al.* Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Rev Bras Farmacognosia**, v.15, p. 1-5, 2005.

TEIXEIRA, M.A. **Diagnóstico comparativo de *Mycoplasma hyopneumoniae* em Suínos de Terminação ao Abate**. 2006. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Área de Concentração Patologia Veterinária). Universidade Federal do Paraná. 2006.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4. ed. rev. e ampl. São Paulo: Atheneu, 2005. 697p.

TROVATO, A. et al. In vitro anti-micotic activity of some medicinal plants containing flavonoids. **Boll Chim Far.**, Messina – Italy, v. 139, n. 5, p.225-227, sept/oct. 2000.

TSUBOI, R; SEKIGUCHI, K; OGAWA, H. The properties and biological role of an acidic proteinase from *Trichophyton mentagrophytes* . **Jpn. J. Med. Mycol**, v.33, p.147–151, 1992.

TUBEROSO, C.I.G. *et al.* Chemical composition of volatiles in *Sardinian myrtle* (*Myrtus communis* L.) alcoholic extracts and essential oils. Italy, **J. Agric. Food Chem.**, v. 54, n.4, p. 1420 – 1426, feb. 2006.

TUOMI, J.; FAGERSTROM, T.; NIEMELÄ, P. Carbon allocation, phenotypic plasticity and induced defenses. IN: TALLAMY, D.W. & RAUPP, M.J. **Phytochemical induction by herbivores**. New York: John Wiley, 1991. p. 85-104.

UTIYAMA, C.E. **Utilização de agentes antimicrobianos probióticos, prebióticos e extratos vegetais como promotores do crescimento de leitões recém-desmamados**. 2004. 110f. Tese (Doutorado em Agronomia - Ciências Animais e Pastagens) – Universidade de São Paulo. 2004.

VALDIGEN, G. L. *et al.* A twenty year survey of dermatophytosis in Braga, Portugal. **International Journal of Dermatology**, v. 45, n. 7, p.8, 2006.

VALE, P.A.P.C. *et al.* Desempenho de leitões recém-desmamados alimentados com rações contendo óleos essenciais e promotores de crescimento. **Gl. Sci. Technol.**, v. 3, n. 3, p. 59–66, 2010.

WAGNER, H.M.; BLANDT, S.; ZGAINSKI, E.M.. **Plant drug analysis**. Berlin: Springer. 1984.

WAKABAYASHI, H. *et al.* Effect of lactoferrin feeding on the host antifungal response in guinea-pigs infected or immunised with *Trichophyton mentagrophytes*. **J. Med. Microbiol**, n.51, p. 844-850, 2002.

WEITZMAN, I, SUMMERBELL, R.C. The dermatophytes. **Clin. Microbiol. Rev**, v.8, n.2, p. 240-259, 1995.

WU, Y. *et al.* Recent dermatophyte divergence revealed by comparative and phylogenetic analysis of mitochondrial genomes. **BMC Genomics**, v.21, n.10, p.238, may 2009.

YUNES, R.A.; PEDROSA, R.C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Quím. Nova**, v.24, n.1, p.147-52, 2001.

ZAMPRONHA, V.C.A *et al.* Isolamento e identificação de dermatófitos de animais presentes no Campus II da Universidade Católica de Goiás. **Rev. Elet. Fac. de Montes Belos**, v.1, n.1, p.22-36, 2005.

ZDOVC, I.; VERGLES, R.A. Skin lesions in goats caused by *Chorioptes caprae* and *Microsporium*

ZLOTOWSKI, P. *et al.* Swine aflatoxicosis outbreak in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Pe**

ZUZARTE, M. *et al.* Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Lavandu*