



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

GABRIELA GONÇALVES DA SILVA

Atividade antifúngica de *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P.Queiroz e drogas antifúngicas sintéticas frente a dermatófitos e *Sporothrix* spp.

Recife
2019



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL**

GABRIELA GONÇALVES DA SILVA

Atividade antifúngica de *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz e drogas antifúngicas sintéticas frente a dermatófitos e *Sporothrix* spp.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal (Área de concentração Biotecnologia) da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota

Co-orientadora: Prof^a. Dra. Erika Fernanda Torres Samico Fernandes Cavalcanti

Recife

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

S586a Silva, Gabriela Gonçalves da.
Atividade antifúngica de *Libidibia férrea* (Mart. Ex Tul.) LP. Queiroz e drogas antifúngicas sintéticas frente a dermatófitos e *Sporothrix spp.* / Gabriela Gonçalves da Silva. – Recife, 2019.
55 f.: il.

Orientador(a): Rinaldo Aparecido Mota.
Coorientador(a): Erika Fernanda Torres Samico Fernandes Cavalcanti.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Recife, BR-PE, 2019.
Inclui referências.

1. Fitoterápicos 2. Dermatopatias 3. Esporotricose 4. Dermatofitose 5. Drogas 6. Micoze I. Mota, Rinaldo Aparecido, orient. II. Cavalcanti, Erika Fernanda Torres Samico Fernandes, coorient. III. Título

CDD 500

GABRIELA GONÇALVES DA SILVA

Atividade antifúngica de *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz e drogas antifúngicas sintéticas frente a dermatófitos e *Sporothrix* spp.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal (Área de concentração Biotecnologia) da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota – Orientador
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

Dr. Carlos Adriano Santana Leal
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

Prof. Dr. André de Souza Santos
UNIBRA

Em memória de meus avós paternos, do meu tio Antônio, que nos deixou no ano que passou, a minha avó Lourdes, meu irmão e meus sobrinhos, e em especial meus pais e meu filho que foram meu alicerce ao longo dessa jornada.

AGRADECIMENTOS

Ao universo, toda minha gratidão. Cada erro me levou a um acerto e o medo me trouxe a superação. O universo sempre nos dá aquilo que acreditamos merecer. A gratidão pode ser encontrada nas coisas mais simples e por isso hoje sou grata pela vida e por todos que dela fazem parte.

Aos meus familiares que sempre estiveram a postos para me auxiliar e acalantar sempre que precisei. Não tenho dúvidas de que com todos os defeitos que possamos ter, tenho a melhor família do mundo.

Aos meus pais que sempre estiveram ao meu lado me incentivando e acreditando em mim. Agradeço a cada puxão de orelha que levei e que me colocaram no caminho certo e por isso sou cada dia mais realizada na minha vida. Obrigada por sempre acreditarem no meu potencial. Amo muito vocês.

A meu filho que é a luz da minha existência, literalmente. Minha vida começou a ter sentido no dia que descobri que ele habitava em meu ventre. Saiba que tudo que faço é por você. Te amo do tamanho do mundo!

A todos os meus amigos, muito obrigada. Vocês me ajudaram direta ou indiretamente a me tornar a pessoa que sou hoje. Um destaque especial para Rafael Artur José da Silva Jr., que já faz parte da minha história há mais de 8 anos e está sempre ao meu lado.

A todos que fazem parte do LDIC – UFRPE, vocês são realmente únicos. Em especial gostaria de agradecer a Amanda Noronha, André Santos, Erika Samico, Érica Chaves, Nazaré Ferreira, Pollyanne Rayza, Raylson Oliveira e Tania Ortega por termos criado um laço lindo de amizade e por me ajudarem no que fosse preciso para concluir meu trabalho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota, por ter me aceitado como sua orientada, por toda paciência e compreensão com meus atrasos. Por todo o incentivo e também pelos puxões de orelha que não poderiam faltar. Também aproveito para agradecer ao Prof. Dr. Wilton Pinheiro Júnior por sempre estar disposto a me aconselhar nos momentos de dúvida.

A Prof^a. Dra. Tania Sarmento por me ceder espaço no Fitolab, por me ensinar a realizar meu experimento e por toda ajuda que me concedeu. A todas as pessoas maravilhosas que fazem parte desse laboratório e que me ajudaram muito durante todo o processamento. Obrigada!

"E quando menos espera o universo se organiza
de tal forma e faz com que tudo dê certo"

Autor desconhecido

RESUMO

Os fungos dermatófitos são de especial relevância na clínica veterinária, visto que possuem um potencial zoonótico e representam um risco para saúde pública. Estes microrganismos têm se tornado cada vez mais resistentes às drogas sintéticas que podem ainda provocar efeitos colaterais tóxicos ao paciente. Nesse sentido é importante o estudo de métodos naturais biologicamente ativos para minimizar esses efeitos e otimizar a resposta ao tratamento. Objetivou-se realizar um estudo comparativo da ação antifúngica do extrato bruto, fração acetato, fração metanol-água e fração hexânica obtidos a partir das folhas da *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz e antifúngicos comerciais frente fungos dermatófitos e *Sporothrix* spp. isolados de cães e gatos. Foram utilizadas 18 amostras clínicas de cães e gatos. O teste para indicar a ação dos extratos e frações obtidas a partir das folhas da *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz foi realizado pelo método de difusão em ágar. A concentração que demonstrou inibição do crescimento de todas as amostras testadas de *Sporothrix* spp e *Trichophyton mentagrophytes* foi a de 60 µg/mL tanto para o extrato bruto e quanto para a fração metanol-água das folhas. Os resultados da atividade antifúngica de *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz são significativos frente aos dermatófitos e *Sporothrix* spp. testados e podem contribuir para reduzir a resistência desses patógenos às drogas sintéticas.

Palavras-chave: dermatofitose, dermatopatias, esporotricose, fitoterápicos, micose.

ABSTRACT

Dermatophyte fungi are of particular relevance in the veterinary clinic, since they have a zoonotic potential and represent a risk to public health. These microorganisms have become increasingly resistant to synthetic drugs that can still cause toxic side effects to the patient. In this sense it is important to study biologically active natural methods to minimize these effects and optimize the response to treatment. The objective of this study was to compare the antifungal activity of the crude extract, acetate fraction, methanol-water fraction and hexane fraction obtained from the leaves of *Libidibia ferrea* (Mart. Ex Tul.) L.P. Queiroz and commercial antifungal agents against fungal dermatophytes and *Sporothrix* spp. isolated from dogs and cats. Eighteen clinical samples of dogs and cats were used. The test to indicate the action of the extracts and fractions obtained from the leaves of *Libidibia ferrea* (Mart. Ex Tul.) L.P. Queiroz was performed by the agar diffusion method. The concentration which showed inhibition of growth of all tested samples of *Sporothrix* spp and *Trichophyton mentagrophytes* was 60 µg /mL for both the crude extract and the methanol-water fraction of the leaves. The results of the antifungal activity of *Libidibia ferrea* (Mart. Ex Tul.) L.P. Queiroz are significant compared to the dermatophytes and *Sporothrix* spp. tested and may contribute to reducing the resistance of these pathogens to synthetic drugs.

Key words: dermatophytosis, dermatopathies, herbal remedies, mycosis, sporotrichosis.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1. Etnomedicina Veterinária	16
2.1.1. <i>Libidibia ferrea</i> Mart. ex Tul.....	17
2.1.1.1. Aspectos gerais	18
2.1.1.2. Composição química	19
2.1.1.3. Atividade antifúngica.....	20
2.2. Micoses	21
2.2.1. Micoses cutâneas	21
2.2.1.1. Características fenotípicas.....	23
2.2.1.1.1. <i>Microsporum canis</i>	23
2.2.1.1.2. <i>Microsporum gypseum</i>	23
2.2.1.1.3. <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	24
2.2.1.2. Diagnóstico clínico-laboratorial.....	25
2.2.2. Micoses subcutâneas	26
2.2.2.1. Complexo <i>Sporothrix schenckii</i>	27
2.2.3. Tratamento das micoses	28
2.2.3.1. Compostos poliênicos.....	29
2.2.3.1.1. Anfotericina B	30
2.2.3.2. Derivados azólicos.....	30
2.2.3.2.1. Fluconazol	31
2.2.3.2.2. Itraconazol.....	31
2.2.3.3. Alilaminas.....	32
2.2.3.3.1. Terbinafina.....	32
3. OBJETIVOS	34
3.1. OBJETIVO GERAL:	34
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	34
4. REFERÊNCIAS.....	35
5. ARTIGO 1	44
Atividade antifúngica <i>in vitro</i> de <i>Libidibia ferrea</i> Mart. contra dermatófitos e <i>Sporothrix</i> spp	45

LISTA DE FIGURAS

Revisão de literatura

Figura 1. <i>Libidibia ferrea</i> (Mart. ex Tul.) L.P.Queiroz.	18
Figura 2. Morfologia da colônia de <i>Microsporum canis</i> .	23
Figura 3. Morfologia da colônia de <i>Microsporum gypseum</i> .	24
Figura 4. Morfologia da colônia de <i>Trichophyton mentagrophytes</i> .	25
Figura 5. Morfologia da colônia de <i>Sporothrix</i> spp.	28

LISTA DE TABELAS

Revisão de literatura

Tabela 1. Principais atividades biológicas e composição química de diversas partes de *Libidibia ferrea*. **19**

Tabela 2. Principais fármacos antifúngicos utilizados em pequenos animais. **28**

Artigo 1

Tabela 1. Resultado das análises de sensibilidade dos fungos dermatófitos e do *Sporothrix* spp. frente ao extrato e frações de *L. ferrea* nas diferentes concentrações da planta. **50**

Tabela 2. Resultado das análises de sensibilidade dos fungos dermatófitos e do *Sporothrix* spp. frente antifúngicos nas diferentes concentrações da planta. **51**

Tabela 3. Análise estatística de associação do extrato bruto e frações nas diferentes concentrações obtidas a partir das folhas da *L. ferrea*. **51**

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

≤	Menor ou igual
®	Marca Registrada
μg	Micrograma
cm	Centímetros
DMSO	Dimetilsufóxido
g	Gramma
H ₂ O	Água
L	Litro
MeOH	Metanol
mL	Mililitro
NaCl	Cloreto de Sódio
°C	Graus Celsius
OMS	Organização Mundial de Saúde
rpm	Rotações por minuto

1. INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que cerca de 80% da população mundial recorre às plantas medicinais para atenção básica em saúde (WHO, 2011). As plantas e seus metabólitos tem seu uso descrito desde 2600 a.C. e são empregadas com a finalidade de tratamento e cura de doenças a partir do momento em que o homem começou a manusear, adaptar e modificar os recursos naturais para seu próprio benefício, tendo sido descobertas as propriedades curativas de maneira intuitiva ou pela observação dos animais que, quando doentes, procuravam nas ervas a cura para as suas afecções (OLIVEIRA, SILVA, 1994; GURIB-FAKIM, 2006; OLIVEIRA, 2008).

Na Medicina Veterinária, a utilização de plantas medicinais no tratamento e prevenção de afecções dos animais é uma atividade que advém de gerações, ainda muito utilizada pela população, principalmente, da zona rural (BERNARDES; SILVA; MOLEIRO, 2011).

Durante muito tempo, veterinários e outros profissionais da área biológica depreciaram o conhecimento empírico do veterinário local (McCORKLE, 1989). Foi então estabelecido o termo “etnomedicina veterinária”, também chamado de etnoveterinária que tem por definição a sistemática a investigação para compreensão sobre crenças e métodos práticos relativos aos cuidados de saúde e de criação dos animais (McCORKLE, 1986; MATHIAS-MUNDY; McCORKLE, 1995). A etnoveterinária é considerada um ramo promissor, tendo em vista que tem como fundamento a pesquisa baseada na utilização de produtos naturais e conhecimentos populares visando a cura e o tratamento de doenças (OLIVEIRA, 2003).

Especialistas em desenvolvimento internacional enxergam a etnoveterinária como sendo uma fonte de novos produtos farmacêuticos com aplicação tanto em países de primeiro mundo, como nos de terceiro mundo, além de ser um fator de manutenção da biodiversidade e aprendizado à agricultura de baixos insumos (GUEDES et al., 2016).

O uso das plantas medicinais na terapêutica veterinária foi enfatizado por ser uma opção de tratamento viável, segura, de fácil obtenção e baixo custo. É ainda considerada uma alternativa de cura menos agressiva ao paciente. Tradicionalmente, muitas plantas são conhecidas por possuírem atividades antiparasitária, cicatrizante, antimicrobiana, repelente, antitérmica, anti-inflamatória, antidiarréica, antiemética,

antiespasmódica, para o tratamento de constipações e retenção de placenta (GUEDES et al., 2016).

Uma das aplicações da fitoterapia é no combate a micoses cutâneas que afetam cerca de 20-25% da população humana mundial (HAVLICKOVA, 2008), sendo frequentemente associadas a dermatófitos (WHITE et al., 2014). Dermatófitos são fungos patogênicos queratinofílicos que provocam lesões superficiais na derme. Em animais, as dermatofitoses são um desafio para a saúde pública, visto que são zoonoses e requerem um tratamento prolongado e dispendioso (TRAKRANRUNGSIE, 2011).

A prevalência de animais positivos para dermatofitose no nordeste do Brasil é de aproximadamente 14,2% para cães e 35% para gatos (BRILHANTE et al., 2003), sendo o *Microsporum canis* o dermatófito isolado em cerca de 90% dos casos (SEGUNDO et al., 2004).

Outros fungos patogênicos de impacto na saúde pública são os pertencentes ao complexo *Sporothrix schenckii*, que provocam micoses profundas de caráter subagudo ou crônico (BARROS et al., 2001). Assim como a dermatofitose, a esporotricose também exige um tratamento prolongado e de alto custo, o que dificulta seu controle.

No bioma Caatinga pertencente à região do semiárido do nordeste brasileiro (LIMA, 2011), existe um rico ecossistema com grande diversidade de espécies e elevada incidência de endemismo. Sua diversidade vegetal disponibiliza uma variedade de recursos para a sobrevivência das populações rurais existentes em seu meio, através da provisão de meios que contribuem na qualidade de vida, como ocorre com as plantas utilizadas para fins terapêuticos (OLIVEIRA et al., 2006).

A *Libidibia ferrea* Mart. (jucá ou pau-ferro) é uma espécie da família *Fabaceae* amplamente utilizada na medicina popular por suas inúmeras propriedades terapêuticas. Estudos comprovaram o potencial antimicrobiano da planta frente às bactérias Gram-positivas *Staphylococcus* sp. e *Streptococcus* sp. (FARIAS, 2013).

Neste sentido, na presente pesquisa nos dedicamos a estudar a ação da *Libidibia ferrea* Mart. frente a fungos causadores de micoses superficiais e profundas, tendo em vista que são de grande ocorrência na rotina clínica, além de estudar a atividade de antifúngicos sintéticos frente ao *Sporothrix* spp. e aos fungos dermatófitos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Etnomedicina Veterinária

Também conhecida como 'etnoveterinária', este ramo tem como base os conhecimentos populares para cura e tratamento de doenças a partir de produtos naturais (OLIVEIRA, 2003). Denomina-se etnomedicina veterinária a sistemática investigação para compreensão sobre crenças e métodos práticos relativos aos cuidados de saúde e de criação dos animais (MATHIAS-MUNDY; MCCORKLE, 1995).

Para o tratamento dos animais, tanto na criação de grande porte (CHAGAS et al., 2004), ou em cães e gatos (OZAKI; DUARTE, 2006), a procura pelo uso das plantas medicinais é crescente no mercado, devido a seu baixo custo e melhor eficácia, além de ser um produto ecologicamente correto (BRANDÃO et al., 2006).

Apesar de o Brasil possuir a maior biodiversidade genética vegetal do mundo, contabilizando cerca de 43.020 espécies vegetais (BRASIL, 2013), cerca de apenas 300 plantas fazem parte do arsenal terapêutico nacional com propriedades terapêuticas conhecidas (LORENZI; MATOS, 2002). Apesar de possuir tamanha biodiversidade, apenas 1% do mercado fitoterápico do país é voltado para o setor veterinário (OZAKI et al., 2006).

Visando a substituição ou redução da utilização dos fármacos sintéticos para o tratamento de doenças em humanos e animais, a fitoterapia vem sendo cada vez mais difundida (LIMA et al., 2012). Para muitos brasileiros essa alternativa de tratamento é uma opção viável, principalmente em regiões que possuem um sistema de saúde deficitária (LIMA et al., 2007).

Na região semiárida do Nordeste, onde se encontra o bioma Caatinga com cerca de 850.000 Km², com clima semiárido, quente e com pluviosidade variando entre 250 e 800 mm anuais (MAIA, 2004; QUEIROZ, 2009), a utilização de plantas fitoterápicas está disseminada entre as populações locais, tendo em vista os fatores socioeconômicos e, em muitos casos, a ausência de assistência médica humana ou animal (ROQUE; LOIOLA, 2013; OLIVEIRA, 2010).

Os recursos vegetais desse bioma disponibilizam diversos subsídios para sobrevivência das populações rurais existentes em seu meio, fornecendo os recursos que contribuem na qualidade de vida, como, por exemplo, as plantas que são utilizadas para fins terapêuticos (OLIVEIRA et al., 2010).

Algumas plantas possuem destaque na aplicação medicinal na Caatinga, como pau-ferro (*Libidibia ferrea* Mart. ex Tul. LP. Queiroz), sabiá (*Mimosa caesalpinifoli* Benth.), angico (*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan), aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. Allemão), juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.), catingueira (*Caesalpinia pyramidalis* Tul.) e marmeleiro (*Croton sonderianus* Muell. Arg.), entre outras, que são empregadas pela população por apresentar atividades diurética, antiasmática, antidiarréica, adstringente, antisséptica, antiulcerogênica e antifebril (DRUMOND et al., 2000).

Estudos etnobotânicos de plantas medicinais em áreas de caatinga têm se empenhado em avaliar a disponibilidade local das espécies (ALBUQUERQUE; OLIVEIRA, 2007), empregando também parâmetros fitossociológicos (SILVA; ALBUQUERQUE, 2005; OLIVEIRA et al., 2007). Ainda sobre esse aspecto, a falta de avanços tecnológicos na medicina faz com que a população de muitas cidades do semiárido lance mão dos conhecimentos empíricos para utilizar a flora disponível. Nesta perspectiva, muitas são as plantas utilizadas pela tradição para diversos fins terapêuticos, tanto em humanos, quanto em animais, contudo sem comprovação científica oficializada no país, ainda que apresentem estudos sobre suas atividades terapêuticas. Dentre estas inclui-se a *Libidibia ferrea* Mart. ex Tul., anteriormente conhecida como *Caesalpinia ferrea* Mart. (pau-ferro ou jucá) (ANSELMO et al., 2012).

2.1.1. *Libidibia ferrea* Mart. ex Tul.

Pertencente à família Fabaceae, subfamília Caesalpinoideae, o gênero *Libidibia* (DC.) Schldl inclui 500 espécies com distribuição mundial (ZANIN et al., 2012). No Brasil, as espécies são distribuídas no Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Alagoas, Sergipe, Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro. Sua distribuição ocorre predominantemente na região Nordeste, em áreas de Caatinga (FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO, 2019).

A *Libidibia ferrea* foi inserida no RENISUS – Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (BRASIL, 2008) e no Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (FNF), sob forma de gel obtido do extrato do fruto e indicado como cicatrizante e antisséptico (BRASIL, 2011).

É popularmente conhecida como “jucá” ou “pau-ferro”, amplamente empregada na medicina popular para o tratamento de diarreias (BALBACH, 1972), reumatismo (MENEZES et al., 2007), como cicatrizante, abortiva (EMPERAIRE, 1983), contra tosses, inflamações, anemias, diabetes (AGRA et al., 1996) e para problemas hepáticos (GONZALEZ, 2005). Na região Nordeste do Brasil é comum a população utilizar o pó da casca do “jucá” no tratamento de feridas cutâneas (XIMENES, 2004).

2.1.1.1. Aspectos gerais

A *Libidibia ferrea* tem como característica seu porte arbóreo e pode chegar até 10m de altura. Seus caules e ramos possuem manchas irregulares predominantemente acinzentados. A folhagem é composta, bipinada com folíolos ovalelímpicos, subsésseis; inflorescência em panículas terminais, multifloras; flores vistosas, monoclinas; corola zigomorfa, amarela; fruto legume bacóide; sementes subelípticas a ovais, de cor castanho ou marrom (AGRA et al., 2005) (FIGURA 1).

Figura 1. *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P.Queiroz. **A.** Porte arbóreo **B.** Florescência da *L. ferrea*.



FONTE: Arquivo pessoal



FONTE: Arquivo pessoal

Muito empregada no paisagismo urbano, a casca dessa árvore é utilizada pela população com finalidades terapêuticas, apresenta propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e analgésicas, anticancerígenas e antiúlcerais. A madeira pode ser

aproveitada em construção civil, rural e marcenaria e na indústria de fármacos (CAMPOS FILHO; SARTORELLI, 2015). É utilizada como forrageira, sendo fonte de alimento para rebanhos na forma de feno ou a folhagem *in natura* (DRUMMOND et al., 2016).

No Nordeste brasileiro, a *Libidibia ferrea* possui uma grande relevância na medicina popular, principalmente na região do semiárido, onde é amplamente empregada para o tratamento de diversas afecções. Estudos farmacológicos comprovaram suas atividades antifúngica (XIMENES, 2004), antiulcerogênica (GONZALES, 2005), hipoglicemiante (VASCONCELOS et al., 2011), antinociceptiva (LIMA et al., 2012), antimicrobiana (FARIAS, 2013), cicatrizante (SOARES et al., 2013), virocida contra Herpes vírus e Poliovírus (LOPES et al., 2013), além de possuir ação hepatoprotetora (HASSAN et al., 2015).

2.1.1.2. Composição química

A presença de compostos fenólicos, saponinas, cumarinas, taninos, esteróis e flavonóides foram demonstrados após estudos fitoquímicos realizados a partir do caule, da casca e das folhas da *L. ferrea* (Tabela 1). Além dos mencionados, na casca da árvore também foi descrita a presença de traços de saponinas, derivados antracênicos, alcalóides e glicosídeos cardiotônicos (GONZALES et al., 2004).

Nakamura et al. (2002) isolaram o ácido gálico e o galato de metila a partir do extrato etanólico dos frutos dessa planta. Já o extrato de benzeno demonstrou a presença de sitosterol, ácido palmítico e octacosanóico, enquanto o extrato alcóolico forneceu ácido gálico, galato de etila e ácido elágico (REBOREDO, 2006). Um importante fitoquímico marcador da espécie, o paufferol também foi isolado do extrato da acetona dos caules (NOZAKI et al., 2007).

Tabela 1 - Principais atividades biológicas e composição química de diversas partes de *Libidibia ferrea*

Parte da Planta	Atividade Biológica	Composição Química	Referências
Caule/Lenho	Antiulcerogênica, antioxidante e inibitória da topoisomerase II humana.	Paufferol A, B e C e ácido gálico.	Bacchi; Sertie, 1994; Bacchi et al., 1995; Gonzalez, 2005; Nozakiet et al., 2007; Ohira et al., 2013.

Cascas	Cicatrizante, desobstruente regula a absorção de glicose no fígado e músculos, propriedades hipoglicêmicas e induz a hipotensão e vasodilatação.	Taninos, ácido gálico, ácido elágico, catequina e epicatequina.	Corrêa, 1984; Menezes et al., 2007; Oliveira et al., 2010; Vasconcelos et al., 2011.
Vagem	Anti-inflamatório, antimicrobiano e antitumoral.	Lectina.	Ximenes, 2004; Pereira et al., 2012; Freitas et al., 2012.
Fruto	Anticancerígena, anti-inflamatória, antibacteriana, analgésica, antioxidante, antimicrobiana e inibidor aldoserredutase	Ácido elágico, ácido gálico e galato de metila.	Carvalho et al., 1996; Ueda et al., 2001; Nakamura et al., 2002; Sudhakar et al., 2006; Sampaio et al., 2009, Vasconcelos et al., 2011; Silva et al., 2011; Lima et al., 2012; Tomaz et al., 2013.
Folhas	Antiulcerogênica, antihistamínica, antialérgica, antimicrobiana e	Galato de metila, ácido gálico, lectina, lupeol, α -amirina e	Bacchi; Sertie, 1994; Bacchi et al., 1995; Coelho, 2004; Gonzalez, 2005; Ferreira, 2011; Port's, 2011.

Adaptado de Wyrepkowski, 2014.

2.1.1.3. Atividade antifúngica

O extrato metanólico do fruto da *Libidibia ferrea* apresentou atividade antifúngica frente a cepas ATCC de *Candida albicans* (SAMPAIO et al., 2009). *Aspergillus niger*, *Colletotrichium lindemuthianum*, *Colletotrichium truncatum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium pallidroseum*, *Mucor* sp., *Neurospora* sp., *Penicillium herguei*, *Phomopsis* sp., *Phytiumoli gandrums*, *Rhizoctonia solani* e *Thricoderma viridae* que foram sensíveis a ação do extrato bruto aquoso obtidos a partir das sementes da planta (CAVALHEIRO et al., 2009).

Ferreira et al. (2013) demonstraram que o extrato bruto da casca da *L. ferrea* inibe o crescimento de cepas ATCC de *Candida* spp. Já o extrato etanólico do fruto demonstrou atividade frente a *Aspergillus parasiticus* (MARTINS et al., 2014).

Os estudos sobre a atividade antifúngica da *L. ferrea* frente a fungos dermatófitos ainda são escassos, no entanto Biasi-Garbin et al. (2016) descreveram a ação da fração aquosa e da fração etanol: água proveniente dos galhos e casca que demonstraram atividade inibitória frente ao *Trichophyton rubrum* e ao *T. mentagrophytes*.

2.2. Micoses

Fungos são microrganismos eucariontes, heterotróficos que pertencem ao Reino Fungi e podem ser uni ou pluricelulares (MEIRELES; NASCENTE, 2009). Cerca de 800.000 espécies de fungos foram descritas, dentre essas, aproximadamente 400 espécies são patogênicas para humanos e animais, conhecidos como fungos dimórficos (QUINN et al., 2011).

As micoses são infecções causadas por fungos e são classificadas segundo o local de infecção: micoses superficiais, cutâneas, subcutâneas, oportunistas e sistêmicas.

2.2.1. Micoses cutâneas

As micoses cutâneas se destacam dentre as infecções fúngicas devido a frequência de casos reportados tanto em humanos quanto em animais. Podem ser classificadas em superficiais estritas, que acometem a camada mais superficial do estrato córneo (SIDRIM; ROCHA, 2004), sendo a malasseziose amplamente relatada por causar dermatomicoses e otites em animais domésticos (CRESPO et al., 2000).

Lesões superficiais produzidas por fungos patogênicos são clinicamente conhecidas como dermatofitoses (MONGA; MOHAPATRA, 1980). São infecções que ocorrem na camada mais profunda da epiderme e dos seus tegumentos e tecidos queratinizados (FERREIRA; SOUZA, 2000). São fungos filamentosos, hialinos, septados e queratinofílicos. Provocam lesões circulares discretas, com áreas de alopecia, bordos eritematosos e vesiculares, que circunscrevem uma porção central descamativa (MENDLEAU; HNILICA, 2003).

Os fungos dermatófitos podem ser classificados como: geofílicos, zoofílicos ou antropofílicos. Dermatófitos geofílicos são fungos saprófitos que adquirem seus nutrientes de substratos queratinizados (como pelos, penas e chifres) presentes no ambiente. Podem infectar humanos e animais que entrem em contato direto com o

solo contaminado. Já os zoofílicos têm como hospedeiros definitivos os animais, no entanto também podem infectar humanos (zoonoses). Os de origem antropofílica são aqueles que possuem como hospedeiro definitivo os humanos, mas também podem infectar animais (antropozoonose) (SAMANTA, 2015).

Os três principais gêneros de dermatófitos são: *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*. A separação ocorre devido as diferenças existentes na morfologia macroscópica e microscópica, além dos modos de esporulação (KONEMAN, 2008).

Em indivíduos com mais de 12 anos, as dermatofitoses figuram entre os principais problemas de pele no mundo (PINHEIRO et al., 1997) e possuem uma significativa prevalência na América Latina (PINHEIRO et al., 1997; BETANCOURT et al., 2009). Sua morbidade varia de acordo com a sazonalidade e a presença de reservatórios (MACIEL; VIANA, 2005). Os perfis epidemiológicos das dermatofitoses possuem variações em diversos países, o que ocorre devido aos fatores climáticos, geográficos, ocupacionais e migratórios (BRILHANTE et al., 2000; DAMÁZIO et al., 2007). No Nordeste, seu perfil epidemiológico é pouco conhecido, visto que não está entre as doenças de notificação obrigatória (ZAITZ, 2010; ARAÚJO et al., 2003).

Os sinais clínicos em animais de pequeno porte são causados pelos danos aos folículos pilosos e subsequente inflamação (MORIELLO, 2004). As lesões costumam aparecer na face, orelhas patas e caudas, podem evoluir para uma cura espontânea ou para uma lesão generalizada crônica, que afeta todo o corpo do animal. A depender da espécie parasitada e do dermatófito que a parasita, o prurido costuma ser leve ou ausente, mas pode ser acentuado pela presença de ectoparasitas ou alergias (MACIEL; VIANA, 2005).

Nos cães, os sinais clínicos podem ser a formação de pápulas, pústulas, com alopecia focal ou dispersa, com áreas eritematosas, descamação e crostas. A resposta inflamatória do hospedeiro à infecção pode causar as reações de kérion (lesões nodulares) que ocorrem particularmente na cabeça, similares a piodermites ou doenças autoimunes (MORIELLO, 2004; OTERBRIDGE, 2006). Já em gatos, as lesões apresentam descamação e crostas com e sem alopecia, que pode ser focal, difusa ou generalizada. Pode ainda ocorrer um quadro de hiperpigmentação da pele dos felinos (MORIELLO, 2004).

Ainda que mais de 20 diferentes espécies de dermatófitos tenham sido relatadas, a maioria dos casos clínicos em cães e gatos é causada por *Microsporum*

canis, *M. gypseum* e *Trichophyton mentagrophytes* var. *mentagrophytes* (BRILHANTE et al., 2003).

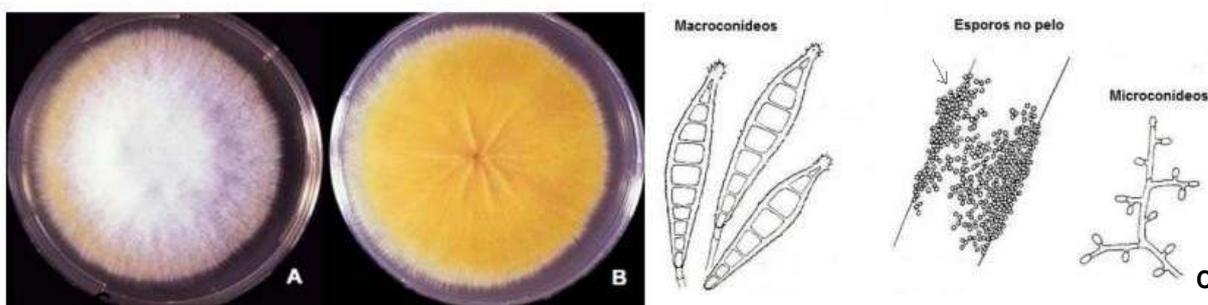
2.2.1.1. Características fenotípicas

2.2.1.1.1. *Microsporum canis*

Encontrado com maior frequência em áreas urbanas, *M. canis* é considerado o dermatófito com potencial zoonótico de maior incidência nos humanos (CARFACHIA et al., 2006). É comumente isolado de cães e gatos, no entanto os gatos assintomáticos apresentam maior potencial zoonótico do que os cães sem sintomatologia clínica (MANCIANTI et al., 2003; CARFACHIA et al., 2006).

No cultivo, possui uma textura algodoadosa branca com o reverso amarelo-limão (Figura 2). O crescimento é rápido de seis a dez dias. Na microscopia direta é possível observar um grande número de macroconídeos fusiformes verrucosos, com paredes grossas e apresenta de cinco a sete septações (ALMEIDA, 2003).

Figura 2. Morfologia da colônia de *Microsporum canis*. (A) Anverso algodoadoso branco. (B) Reverso Amarelo. (C) Estruturas de frutificação e esporos presentes no



Fonte: SCOTT et al., 2001; THE UNIVERSITY OF ADELAIDE, 2011.

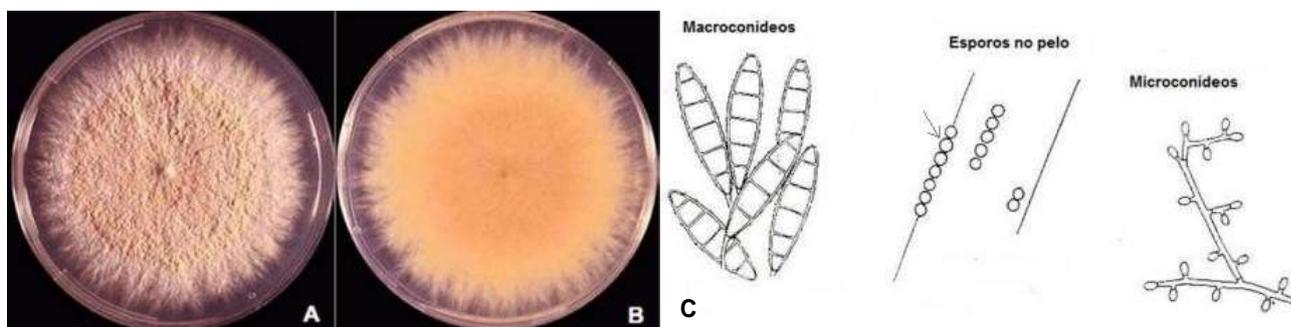
2.2.1.1.2. *Microsporum gypseum*

Por ser uma espécie geofílica, *M. gypseum* tem o solo como nicho natural e pode causar infecção em animais, sendo mais frequentemente isolado de cães (CABAÑES, 2001).

As colônias possuem um crescimento rápido entre três a cinco dias. Na macroscopia, a colônia possui uma textura pulverulenta com pigmentação amarelo-acastanhado no anverso, enquanto no reverso pode variar entre o alaranjado ao marrom (Figura 3). Microscopicamente, possui grande quantidade de macroconídeos

simétricos, que apresentam de três a sete septações de paredes finas, extremidade arredondada e superfície levemente rugosa (ALMEIDA, 2003).

Figura 3. Morfologia da colônia de *Microsporium gypseum*. (A) Anverso pulverulento. (B) Reverso Amarelo. (C) Estruturas de frutificação e esporos presentes no pelo.



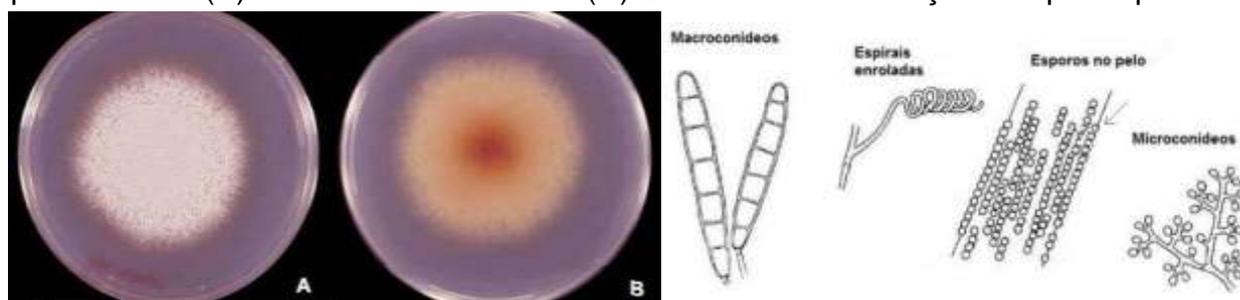
Fonte: SCOTT et al., 2001; THE UNIVERSITY OF ADELAIDE, 2011.

2.2.1.1.3. *Trichophyton mentagrophytes*

Comumente obtido a partir de amostras provenientes de cães e gatos são geralmente originários de hospedeiros roedores (BOND, 2010). No cultivo, formam círculos concêntricos e *T. mentagrophytes* apresenta uma textura furfurácea ou pulverulenta em ágar Sabouraud, sem apresentar relevo. O anverso possui uma coloração que varia de branco-amarelado a castanho avermelhado, enquanto o reverso geralmente apresenta pigmento castanho que tende ao vinho (Figura 4). O crescimento varia entre seis a onze dias da semeadura primária (SIDRIM & ROCHA, 2004).

Microscopicamente apresenta poucas estruturas de frutificação, com grande quantidade de microconídeos arredondados e agrupados, por isso o aspecto de cacho. Os macroconídeos se assemelham a um charuto, com seis septos transversais ligados a hifas hialinas e septadas. Também é possível observar a formação de hifas em espiral, órgãos nodulares, hifas em raquete e clamidoconídios intercalares (SIDRIM; ROCHA, 2004).

Figura 4. Morfologia da colônia de *Trichophyton mentagrophytes*. (A) Anverso branco e pulverulento. (B) Reverso acastanhado. (C) Estruturas de frutificação e esporos presentes



Fonte: SCOTT et al., 2001; THE UNIVERSITY OF ADELAIDE, 2011.

2.2.1.2. Diagnóstico clínico-laboratorial

Atrelado ao diagnóstico clínico é necessário que sejam realizados os exames laboratoriais para que haja confirmação da suspeita e então se institua o tratamento correto (HAY et al., 1995). O diagnóstico laboratorial ainda servirá como subsídio para criação de uma estimativa a respeito da população fúngica de maior ocorrência na região (KHOSRAVI; MAHMOUDI, 2003).

Assim como em outras micoses, o sucesso do diagnóstico laboratorial inicia pela devida colheita do material, conservação e transporte (DAVEY et al., 1996). Vale ressaltar que o paciente não deve estar sob uso de medicamento antifúngico no momento da realização do exame, caso ocorra, a medicação deve ser suspensa pelo período de 7 a 15 dias para que só então, após esse período, seja realizada colheita do material (SANTOS et al., 2002).

O pelo que será enviado para análise deve ser coletado das bordas da lesão por arrancamento, por ser o local de maior concentração do patógeno. O material de lesões supuradas deve ser colhido com *swab* para posterior cultivo em meio de cultura. Após colheita da amostra biológica, esta deve ser encaminhada para o laboratório em recipientes secos como placas de Petri ou em envelopes de papel resistente (SANTOS et al., 2002).

Um dos métodos utilizados para diagnóstico é o exame microscópico direto. O material colhido deve ser tratado com hidróxido de potássio em uma concentração de 10-30%, dessa forma é possível observar no microscópio as estruturas fúngicas presentes (SANTOS et al., 2002). As estruturas observadas são arredondadas (artroconídios), e mais raramente filamentos micelianos. O parasitismo de

artroconídeos na camada cortical do pelo é denominado *ectothrix*, enquanto que na camada medular denomina-se *endothrix*.

Para confirmar o agente causal da dermatofitose pode ser realizada cultura fúngica. O meio rotineiramente utilizado é o ágar Sabouraud suplementado com antimicrobianos, cloranfenicol e cicloheximida (LACAZ et al., 1991). Outro meio recomendado para cultivo de dermatófitos é o ágar extrato de malte (LIU et al., 1997). A temperatura ótima de crescimento é entre 25 a 30°C, em um período de 7 a 15 dias (SANTOS et al., 2002). A identificação é feita com base nas características macro e micromorfológicas da colônia. Na macroscopia observa-se a coloração do anverso e reverso da colônia, topografia, textura e velocidade de crescimento. Fragmentos devem ser corados (em sua maioria com lactofenol azul de algodão) e examinado ao microscópio para visualização de modificação de hifas, macro e microconídeos. Pode-se fazer necessário repique para um meio que favoreça a formação dos conídeos como por exemplo o ágar batata (SANTOS et al., 2002).

Um outro método que pode ser empregado é a luz de Wood. A coproporfirina, substância produzida por *M. canis*, quando exposta a radiação ultravioleta, emite uma fluorescência esverdeada. Por apresentar resultados falsos positivos, (algumas pomadas, sabões, resíduos de urina e antibióticos também podem emitir fluorescência no momento do exame) a luz de Wood é considerada um teste de triagem para posterior confirmação através do exame direto ou cultura fúngicas (CAFARCHIA et al., 2004).

2.2.2. Micoses subcutâneas

São infecções fúngicas que se desenvolvem a partir de um trauma transcutâneo. A evolução da infecção depende do desenvolvimento do agente etiológico e como este sobrevive e se adapta ao tecido hospedeiro. As principais infecções fúngicas subcutâneas incluem esporotricose, cromoblastomicose, micetoma, lobomicose, rinosporidiose, zigomicose subcutânea e feohifomicose subcutânea. O diagnóstico baseia-se na apresentação clínica, histopatologia e cultura dos agentes etiológicos.

2.2.2.1. Complexo *Sporothrix schenckii*

Com predileção por regiões de clima tropical úmido, a esporotricose é causada por fungos pertencentes ao complexo *Sporothrix schenckii*, saprófitas do solo, matéria orgânica e plantas (MADRID et al., 2010). Felinos machos, não castrados e de vida livre são os principais afetados por essa micose (CROTHERS et al., 2009). A inoculação do fungo ocorre por meio de uma lesão de continuidade. Os esporos do agente podem estar presentes em fômites, espinhos de plantas, ou podem ocorrer ainda por arranhões e mordidas de felinos doentes ou portadores assintomáticos, tendo em vista que podem carrear o fungo em suas unhas ou cavidade oral (VIAUD; BESIGNOR, 2008; MADRID et al., 2010).

Clinicamente, a esporotricose pode se manifestar na forma cutânea, sendo esta fixa, linfocutânea e disseminada, ou pode ser ainda extracutânea, atingindo ossos, articulações ou pulmões (VIAUD; BESIGNOR, 2008). A lesão cutânea caracteriza-se pela formação de nódulos e pústulas, podendo desenvolver amplas áreas de necrose (MADRID et al., 2010).

A utilização da cultura para isolamento dos fungos pertencentes ao complexo *Sporothrix schenckii* é tido como padrão ouro para diagnóstico desses microrganismos. No entanto o diagnóstico citopatológico é utilizado na rotina ambulatorial veterinária, realizado a partir de um imprint das lesões dos animais em lâminas de vidro, corado pelo Panótico Rápido, evidenciando estruturas leveduriformes abundantes (SCHUBACH et al., 2002; SCHUBACH et al., 2004; SILVA et al., 2015).

Quando isolados a 25°C, *Sporothrix schenckii* apresenta a formação de colônias de coloração creme a marrom escuras, com superfície plana a rugosa e aspecto aveludado a membranoso (FIGURA 5). Na microscopia, as hifas se apresentam finas, hialinas, septadas e ramificadas, com conídios hialinos piriformes no ápice dos conidióforos e ao redor das hifas. Na incubação a 37°C, a macroscopia do agente apresenta colônias lisas, cremosas, de cor creme e as células são ovais e alongadas na microscopia (LACAZ et al., 2002).

Figura 5. Morfologia da colônia de *Sporothrix* spp. (A) Anverso branco. (B) Reverso amarelo. (C) Formação de filamentos a 25°C e leveduras a 37°C.



Fonte: SCHEUFEN et al., 2015.

2.2.3. Tratamento das micoses

Ainda que extensa, a lista de substâncias com ações antifúngicas ainda é restrita quando comparada a quantidade de fármacos antibacterianos disponíveis. Na medicina veterinária, os fármacos utilizados são basicamente os mesmos utilizados ao longo das últimas décadas, como pode ser visto na tabela 2 (NOBRE et al., 2002).

Tabela 2. Principais fármacos antifúngicos utilizados em pequenos animais.

Fármaco	Micoses	Doses
*Clotrimazol	Dermatofitose Malasseziose Candidiose Aspergilose nasal	**Formulação a 1% (Frequência dependendo da formulação/caso)
*Econazol	Dermatofitose Malasseziose Candidiose	**Formulação a 1% (Frequência dependendo da formulação/caso)
*Miconazol	Dermatofitose Malasseziose Candidiose	**Formulação a 2% (Frequência dependendo da formulação/caso)
*Enilconazol	Aspergilose nasal Dermatofitose Malasseziose	**Formulação a 0,2% (Frequência dependendo da formulação/caso)

		Superficiais	Subcutâneas/Sistêmicas
Cetoconazol	Superficiais Subcutâneas Sistêmicas	C/G: 5-30mg/kg/dia	C/G: 10-30mg/kg/dia
Itraconazol	Superficiais Subcutâneas Sistêmicas	Superficiais C: até 5mg/kg G: 1,5 – mg/kg/dia	Subcutâneas/sistêmicas C/G: 100mg/dia ***
Fluconazol	Superficiais Subcutâneas Sistêmicas		C/G: 2,5-5,5mg/kg/dia
*Terbinafina	Dermatofitose	G: até 20mg/kg/24 ou 48h	
Flucitosina	Criptococose	C/G: 125-250mg/kg/dia	
Anfotericina B	Sistêmicas	C: 0,2-0,8mg/kg/dia G: 0,1-0,8mg/kg/dia	
*Nistatina	Micoses superficiais Otites	**Formulações 50.000 a 100.000 UI/g (Frequência dependendo da formulação/caso)	
Griseofulvina	Dermatofitose	25-50mg/kg/dia	

Adaptado de Nobre et al. (2002); * Uso tópico; ** Xampus, cremes, sprays, soluções, gel; *** (SILVA et al., 2012) •Dose conforme estado do paciente. •C – Cães; G – Gatos.

Dentre as drogas utilizadas na terapêutica frente a micoses cutâneas e subcutâneas, podem ser destacados os derivados azólicos, compostos poliênicos, alilaminas e griseofulvina (SIDRIM; ROCHA, 2004).

2.2.3.1. Compostos poliênicos

Representados pela anfotericina B e nistatina foram as primeiras drogas antifúngicas que apresentaram real eficácia no tratamento de micoses potencialmente fatais. Subproduto da fermentação do *Streptomyces* spp., organismos provenientes do solo, a nistatina foi descrita pela primeira vez em 1950, no entanto a anfotericina B ganhou destaque por possuir um amplo espectro de atividade contra fungos diversos e sua efetiva ação frente a infecções fúngicas potencialmente letais (HECTOR, 2005).

2.2.3.1.1. Anfotericina B

Produzida pelo actinomiceto *Streptomyces nodosus*, este fungicida atua ligando-se ao esteróide presente na membrana de fungos sensíveis à droga, conhecido como ergosterol. Esta ligação irá alterar a permeabilidade da membrana, o que acarretará em perda dos constituintes citoplasmáticos e ao desencadeamento de uma lesão oxidativa, que provocará alterações no metabolismo que serão prejudiciais à sobrevivência celular (MARTINEZ, 2006).

Seu amplo espectro de ação abrange os agentes etiológicos das principais micoses endêmicas: *Paracoccidioides brasiliensis*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* e var. *gattii* e *Sporothrix schenckii*. Apresenta boa atividade contra *Candida albicans*, no entanto as demais podem ser resistentes. Atua contra *Aspergillus fumigatus*, mas a sensibilidade de outras espécies de *Aspergillus* é variável. Suscetibilidade variada também é observada para zigomicetos (*Mucor*, *Rhizopus*) e *Fusarium* spp. Certos microrganismos causadores de infecções fúngicas oportunistas são geralmente resistentes à anfotericina B, a exemplo de *Trichosporon* spp., *Pseudallescheria boydii*, *Cladosporium* spp. e *Phialophora* spp. (MARTINEZ, 2006).

A anfotericina B pode desencadear reações adversas no paciente, como febre, tremores, calafrios, náuseas, vômitos, principalmente quando relacionadas à infusão. O tratamento frequentemente resulta em disfunção renal, com gravidade variando de acordo com o paciente (FILIPPIN; SOUZA, 2006).

2.2.3.2. Derivados azólicos

Os azóis foram inicialmente classificados como imidazóis. Descoberto por cientistas da Janssen Pharmaceutica, o cetoconazol foi o primeiro medicamento oral utilizado para micoses graves e não fatais. Uma nova geração de azóis mais potentes foi descoberta pela criação de análogos contendo três nitrogênios no anel azólico, os triazóis. O itraconazol foi a nova descoberta da Janssen, um análogo do cetoconazol que era substancialmente mais potente que também tinha um perfil de segurança mais favorável. A Pfizer® introduziu o fluconazol (Diflucan®), um medicamento que expandiu muito o mercado de antifúngicos em virtude de sua boa atividade contra micoses economicamente importantes. Um número de azóis para uso tópico também estão

disponíveis em uma variedade de formulações; a maioria são imidazoles (HECTOR, 2005).

O principal mecanismo de ação de todos os azóis é o bloqueio da biossíntese do ergosterol que é um componente importante da membrana citoplasmática dos fungos. No entanto, muitos azóis também interagem com isoenzimas P450 de mamíferos, causando efeitos colaterais e interações medicamentosas de magnitude e significância variáveis (BOSSCHE et al., 2003).

2.2.3.2.1. Fluconazol

Ainda que *in vitro* o fluconazol não apresente um resultado satisfatório em testes de suscetibilidade, é eficaz contra uma variedade de micoses *in vivo*. É essencialmente solúvel em água e possui uma ligação protéica muito baixa tanto em animais quanto em humanos e, dessa forma, se distribui por todo o corpo e na maioria dos fluidos corporais (COMO; DISMUKES, 1994).

O fluconazol é geralmente considerado um agente fungistático com moderada atividade *in vitro* contra a maioria das leveduras. A exposição da maioria das leveduras ao fluconazol não resulta em uma resposta fungicida (ESPINEL-INGROFF, 2003) e a cura clínica pode depender da resposta imune inata ou adquirida do hospedeiro (HECTOR, 2005).

Com base em dados *in vitro*, o fluconazol é geralmente considerado inativo contra *Aspergillus* spp. e outros fungos filamentosos (ESPINEL-INGROFF et al., 1995). Contra os fungos patogênicos dimórficos, apresenta razoável atividade *in vitro* contra o *Coccidioides immitis*, mas com menor atividade contra o *Histoplasma capsulatum* e o *Blastomyces dermatitidis* (NAKAI et al., 2003).

Assim como os demais antifúngicos, o fluconazol pode causar hepatotoxicidade, mas a incidência é baixa. Em humanos, o antifúngico demonstrou atividade limitada contra histoplasmose (WHEAT et al., 1997) e blastomicose (PAPPAS et al., 1997), no entanto contra esporotricose sua ação e eficácia foi considerada moderada (LORTHOLARY et al., 1999).

2.2.3.2.2. Itraconazol

Apesar de ser um composto altamente lipofílico, 99% do itraconazol (Sporonox, Janssen, Ortho Biotech) circulante é ligado às proteínas e possui limitada penetração

no líquido cefalorraquidiano (LCR) e em outros fluidos corporais aquosos (SCHAFER-KORTING et al., 1991). No entanto há considerável acúmulo do fármaco no pulmão, rim, fígado, osso, músculo, pele e unhas a concentrações maiores que os níveis plasmáticos circulantes, devido a sua ampla distribuição. Esta característica é fundamental para sua eficácia (WILLEM et al., 2001).

O itraconazol é extensamente metabolizado no fígado, mas seu metabólito primário mantém uma boa atividade antifúngica (BOSSCHE et al., 2003). Apesar de ser geralmente bem tolerado, o desconforto gastrointestinal e os efeitos nas enzimas hepáticas são os achados mais comuns (SHEENAN et al., 1999).

Este medicamento possui uma ampla atividade contra grande parte dos fungos de importância veterinária, incluindo dermatófitos. Devido à sua retenção nos locais-alvo, é possível usar dosagem intermitente com itraconazol na pele no tratamento de micoses superficiais (MATTHIEU et al., 1991; MATUSZEWSKI; PARK, 1997). É ainda altamente ativo contra fungos filamentosos e dimórficos, embora possa haver uma grande variedade de suscetibilidade com alguns isolados de *Aspergillus* spp. e da maioria dos *Fusarium* spp. (ESPINEL-INGROFF, 2003).

Em humanos, geralmente é a droga de escolha contra casos leves a moderados de histoplasmose, blastomicose e esporotricose, e é amplamente utilizado no tratamento de coccidioidomicose (NAKAI et al., 2003; KAUFFMAN, 1996). Sua utilidade na blastomicose e esporotricose canina e felina é bem documentada, enquanto os dados são mais limitados para coccidioidomicose e histoplasmose veterinária (LEGENDRE et al., 1996).

2.2.3.3. Alilaminas

Representados pela naftifina e terbinafina, este grupo de antifúngicos são inibidores da biossíntese de ergosterol e podem atuar de maneira fungicida e fungistática (SIDRIM; ROCHA, 2004), sendo o maior composto da classe a terbinafina que apresenta um melhor desempenho contra fungos dermatófitos (HECTOR, 2005).

2.2.3.3.1. Terbinafina

Quando comparado a griseofulvina, um antifúngico mais antigo, a terbinafina apresenta menor toxicidade e uma melhor eficácia (MORIELLO, 2004). Quando

administrado oralmente, a droga é rapidamente distribuída para a pele, unhas e cabelos, tanto pelo sebo quanto pela difusão através da derme (FAERGEMANN et al., 1994), o que contribui para sua eficácia contra dermatófitos (HECTOR, 2005).

Também demonstrou atividade *in vitro* contra uma variedade de outros fungos, dentre eles *Candida* spp., *Aspergillus* spp., além dos isolados de fungos patogênicos dimórficos: *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum* e *Blastomyces dermatitidis* (HAY, 1999). A terbinafina parece ser bem tolerada. As reações adversas relatadas em humanos são, em geral, transitórias e leves e envolvem principalmente o sistema gastrointestinal e a pele (HALL et al., 1997).

Os trabalhos sobre a utilização da *Libidibia ferrea* como droga antifúngica ainda são escassos no Brasil, sobretudo na região Nordeste e também no estado de Pernambuco. Devem ser realizados mais estudos em diferentes regiões e com mais amostras para assim compreender melhor o efeito desse composto frente às espécies fúngicas estudadas.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL:

Realizar um estudo comparativo da ação antifúngica *in vitro* do extrato bruto e frações etanólica, hexânica e metanol-água de *Libidibia ferrea* Mart. e antifúngicos comerciais sobre fungos dermatófitos e fungos do complexo *Sporothrix schenckii* isolados de lesões de cães e gatos.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Obter o extrato bruto e suas frações das folhas e casca da *Libidibia ferrea* Mart.
- Pesquisar o efeito antifúngico *in vitro* dos extratos e frações obtidas da planta frente a amostras ambulatoriais de fungos dos gêneros *Trichophyton*, *Microsporum* e *Sporothrix*.
- Testar os isolados obtidos frente às drogas sintéticas: anfotericina B, fluconazol, itraconazol e terbinafina.
- Realizar um estudo comparativo entre os resultados obtidos entre as drogas sintéticas e *Libidibia ferrea* Mart.

4. REFERÊNCIAS

AGRA, M. F.; LOCATELLI, E.; ROCHA, E. A.; BARACHO, G.S.; FORMIGA, S.C. Plantas medicinais dos Cariris Velhos, Paraíba: Parte II: subclasses *Magnoliidae*, *Cryophyllidae*, *Dilleniidae* e *Rosidae*. Revista Brasileira de Farmácia., v. 77, n.3, p. 97-102, 1996.

ALBUQUERQUE, U.P.; OLIVEIRA, R.F. Is the use-impact on native caatinga species in Brazil reduced by the high species richness of medicinal plants? *Journal of Ethnopharmacology* 2007;113(1):156-170, 2012.

ALMEIDA, S. R. Apostila de Micologia Clínica. Faculdade Ciências Farmacêuticas – USP. 2003.

ALSELMO, A.F.; SILVA, C.G.; MARINHO, M.G.V.; ZANELLA, F.C.V; XAVIER, D.A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais comercializadas por raizeiros em uma feira livre no município de Patos- PB. Revista de Biologia e Farmácia, vol. Especial, 2012.

ARAÚJO, A. J. G.; BASTOS, O. M.; SOUZA, M. A. J.; OLIVEIRA, J. C. Ocorrência de onicomicose em pacientes atendidos em consultórios dermatológicos da cidade do Rio de Janeiro, Brasil. Anais Brasileiros de Dermatologia. v. 78, n. 3, p. 299-308, 2003.

BALBACH, A. As Plantas que curam. São Paulo: Edições A Edificação do Lar, 1972.

BARROS, M.B.L.; SCHUBACH, T.M.P.; GUTIERREZ-GALHARDO, M.C.; SCHUBACH, A.; FIALHO-MONTEIRO, P.C.; REIS, R.S. Sporotrichosis: an emergent zoonosis in Rio de Janeiro. Mem Inst Oswaldo Cruz 96(6): 777-779, 2001.

BERNARDES, C. A. C. G.; SILVA, F. A. DA; MOLEIRO, F. C. Uso de plantas medicinais pelos moradores do bairro Cohab Tarumã, Tangará da Serra, MT para o tratamento da alergia ou de seus sintomas. BIOLOGIA E FARMÁCIA. 6 (2): 161-172, 2011.

BETANCOURT, O. et al. *Microsporum canis* em gatos dermatologicamente sanos em Temuco, Chile. Iberoamericana de Micologia, v.26, p. 206-210, 2009.

BIASI-GARBIN, R.P.; DEMITTO, F.O.; AMARAL, R.C.R.; FERREIRA, M.R.A.; SOARES, L.A.L.; SVIDZINSKI, T.I.E.; et al. Antifungal potential of plant species from brazilian caatinga against dermatophytes. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. S. Paulo. 2016

BOND, R. Superficial veterinary mycoses. Clinics in Dermatology, v.28, p.226-236, 2010.

BOSSCHE, H.V.; ENGELLEN, M.; ROCHETTE, F. Antifungal agents of use in animal health – chemical, biochemical and pharmacological aspects. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics. v. 26, p. 5-29, 2003.

BRANDÃO, M. G. L. et al. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopocia. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 16, n. 3, p. 408-420, 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2011. 126p. Fabaceae in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB109827>>. Acesso em: 27 Jan. 2019

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. 100ª Convenção sobre Diversidade Biológica, 2013.

BRASIL. Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. Brasília, DF, Ministério da Saúde, 2008. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/dicas-de-saude/404.html>. Acesso em: 27 de maio de 2018.

BRILHANTE, R. S. N.; PAIXÃO, G. C.; SALVINO, L. K.; DIÓGENES, M. J. N.; BANDEIRA, S. P.; ROCHA, M. F. G.; SANTOS, J. B.; SIDRIM, J. J. C. Epidemiologia e ecologia das dermatofitoses na cidade de Fortaleza: o *Trichophyton tonsurans* como importante patógeno emergente da *Tinea capitis*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. v. 33, n. 5, p. 417-25, 2000.

BRILHANTE, R.S.N., CAVALCANTE, C.S.P., SOARES-JÚNIOR, F.A., CORDEIRO, R.A., SIDRIM, J.J.C., ROCHA, M.F.G. High rate of *Microsporum canis* feline and canine dermatophytoses in Northeast Brazil: Epidemiological and diagnostic features. *Mycopath* v. 156: p. 303-308, 2003.

CABAÑES, F.J. Identificación de hongos dermatofitos. In: Remán, J., Mantín-Mazuelos, E., Calvo, M.C.R. (Eds). *Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico em Micología Clínica*. Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao, 2001.

CAFARCHIA, C.; ROMITO, D.; CAPELLI, G.; GUILLOTT, J.; DOMENICO, O. Isolation of *Microsporum canis* from the hair coat of pet dogs and cats belonging to owners diagnosed with *M. canistinea corporis*. *Veterinary Dermatology*, v. 17, n. 5, p. 327-331, 2006.

CAFARCHIA, C. et al. The epidemiology of canine and feline dermatophytoses in southern Italy. *Mycoses*, Berlin, v. 47, n. 11-12, p. 508-13, 2004.

CAMPOS FILHO, E. M.; SARTORELLI, P. A. R. *Guia de árvores com valor econômico*. São Paulo: Agroicone, 2015.

CAVALHEIRO, M.G.; FARIAS, D.F.; FERNANDES, G.S.; NUNES, E.P.; CAVALCANTI, F.S.; VASCONCELOS, I.M.; MELO, V.M.M.; CARVALHO, A.F.U. Biological and enzymatic activities of aqueous extract of seeds from *Caesalpinia ferrea* Mart., Leguminosae. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 19(2B):586-591, 2009.

CHAGAS, A. C. S. et. al. Ação larvicida de Derivados arilsulfonílicos da cânfora e da isopinocanfona, em *Boophilus microplus*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 54, n. 5, p. 462-467, 2004.

COMO, J.A.; DISMUKES, W.E. Oral azole drugs as systemic antifungal therapy. *New England Journal of Medicine*, v.330, p.263-272, 1994.

CRESPO, M.J., ABARCA, M.L., CABAÑES, F.J. Occurrence of *Malassezia* spp. In the external ear of dogs and cats with and without otitis externa. *Medical Mycology* 40(2), 115-221. 2000.

CROTHERS, S.L.; WHITE, S.D.; IHRKE, P.J.; AFFOLTER, V.K. Sporotrichosis: a retrospective evaluation of 23 cases seen in northern California (1987–2007). *Veterinary Dermatology*. 20(4):249 - 259. 2009.

DAMÁZIO, P. M. R.; LACERDA, H. R.; FILHO, A. M. L.; MAGALHÃES, O. M. C.; NEVES, R. P. Epidemiologia, etiologia e formas clínicas das dermatofitoses em Pernambuco, 1995-2005. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. v. 40, n. 4, p. 484-86, 2007.

DAVEY, K.G., CAMPBELL, C.K. & WARNOCK, D.W. Mycological techniques. *Journal of Clinical Microbiology*, 49: 95-9, 1996.

DRUMMOND, M.A.; KIILL, L.H.P.; RIBASKI, J.; AIDAR, S.T. Caracterização e Usos das Espécies da Caatinga. Subsídio para programas de restauração Florestal nas Unidades de Conservação da Caatinga (UCCAs). Petrolina: Embrapa Semiárido, 2016.

DRUMOND, M.A.; KILL, L.H.P.; LIMA, P.C.F.; OLIVEIRA, M.C.; OLIVEIRA, V.R.; ALBUQUERQUE, S.G.; NASCIMENTO, C.E.S.; CAVALCANTI, J. Estratégias para o uso sustentável da biodiversidade da Caatinga (Documento para discussão no GT Estratégias para o uso sustentável). In: Seminário para avaliação e identificação de ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade do bioma Caatinga. Petrolina. 2000.

EMPERAIRE, L. La Caatinga du sud-est du Piauí (Brésil): Étude Ethnobotanique. Paris: Éd. Recherche sur les civilisations, 135 p., 1983.

ESPINEL-INGROFF, A. *In vitro* antifungal activities of anidulafungin and micafungin, licensed agents and the investigational triazole posaconazole as determined by NCCLS methods for 12,052 fungal isolates: review of the literature. *Revista Iberoamericana de Micología* 20: 121-136, 2003.

ESPINEL-INGROFF, A.; DAWSON, K.; PFALLER, M.; ANAISSIE, E.; BRESLIN, B.; DIXON, D.; FOTHERGILL, A.; PAETZNICK, V.; PETER, J.; RINALDI, M. Comparative and collaborative evaluation of standardization of antifungal susceptibility testing for filamentous fungi. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 39: 314-319, 1995.

FARIAS, E. T. N. Atividade Antimicrobiana in vitro do Extrato de Etanólico de *Caesalpinia ferrea* Mart. (Leguminosae). Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Biociência Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2013, 40 f.

FERREIRA, M.R.A.; SANTIAGO, R.R.; LANGASSNER, S.M.Z.; MELLO, J.C.P.; SVIDZINSKI TIE, L.A.L. Antifungal activity of medicinal plants from Northeastern Brazil. *Journal of Medicinal Plants Research*. 7(40):3008-3013, 2013.

FERREIRA, W. F. C.; SOUZA, J. C. F. Microbiologia. Lisboa-Porto Coimbra: LIDEL – Edições técnicas Ltda, 343 p., 2000.

FILIPPIN, F.B.; SOUZA, L.C. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B. *Rev. Bras. Ciências farmacêuticas. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 42, nº 02, abr./jun., 2006.

GONZALEZ, F. G. Estudo farmacognóstico e farmacológico de *Caesalpinia ferrea* Martius. 2005. 155f. Tese (Doutorado em Fármacos e Medicamentos) -

Programa de Pósgraduação em Fármacos e Medicamentos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

GONZALEZ, F.G., BARROS, S.B.M., BACHI, E. M. Atividade antioxidante e perfil fitoquímico de *Caesalpineia ferrea* MART. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences 40, 79, 2004

GUEDES, A. R.; et al. Fitoterapia na medicina veterinária. Tópicos especiais em Ciência Animal V. 1ª ed. Alegre-ES, Caufes. 2016.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday. Molecular Aspect of Medicine, n. 27, p. 1-93, 2006.

HALL, M.; MONKA, C.; KRUPP, P. et al. Safety of oral terbinafine: results of a postmarketing surveillance study in 25,884 patients. ARCHIVES OF DERMATOLOGY. 133:1213–19, 1997

HASSAN, S. K. et al. Hypoglycemic and antioxidant activities of *Caesalpinia ferrea* Martius leaf extract in streptozotocin-induced diabetic rats. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, v. 5, n. 6, p. 462-471, 2015.

HAVLICKOVA, B.; CZAIIKA, V.A.; FRIEDRICH, M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. Mycoses. 51 (Suppl. 4), 2-15, 2008.

HAY, R.J. The current status of antimycotics in the treatment of local mycosis. Acta dermato-venereologica. Supplementum v. 121: p.103-108, 1995

HAY, R.J. The management of superficial candidiasis. Journal of the American Academy of Dermatology 40: S35–S42, 1999.

HECTOR, R.F. An Overview of Antifungal Drugs and Their Use for Treatment of Deep and Superficial Mycoses in Animals. Clinical Techniques in Small Animal Practice. 20 (4):240-249, 2005.

KAUFFMAN, C. Role of azoles in antifungal therapy. Clinical Infectious Diseases. 22. Suppl 2: S148-153. 1996.

KHOSRAVI, A. R.; MAHMOUDI, M. Dermatophytes isolated from domestic animals in Iran. Mycoses, v. 46, p. 222-225, 2003.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C. Diagnóstico microbiológico. 6. ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2008.

LACAZ, C.S., PORTO, C., MARTINS, J.E.C., HEIS-VACCARI E.M. & MELO, N.T. Tratado de Micologia Médica, Sarvier, São Paulo, 2002.

LACAZ, C.S., PORTO, E. & MARTINS, J.E.C., 1991. Morfologia e biologia dos fungos de interesse médico. Micologia Médica, Sarvier, São Paulo, 2: 31-84.

LEGENDRE, A.M.; ROHRBACH, B.W.; TOAL, R.L., et al. Treatment of blastomycosis with itraconazole in 112 dogs. Journal of Veterinary Internal Medicine, v.10, n.6, p.365-371, 1996.

LIMA, B. G. Caatinga: espécies lenhosas e herbáceas. Mossoró: Editora Ufersa, 2011.

LIMA, C.B., N.M.T. Bellentini, A.S. Silva, A. Cheirubim, J.K. Janani, M.A.V. Vieira and T.S. Amador. Uso de Plantas Medicinais Pela População da Zona Urbana de Bandeirantes PR. Revista Brasileira de Biociências 5(1):600–602, 2007.

LIMA, R.P. et al. Emprego de plantas medicinais em animais de companhia e de produção da zona rural do município de Juru-PB. *Revista de Biologia e Farmácia*, v. 8, n. 1, p. 85-92, 2012.

LIMA, S. M. A. et al. Anti-inflammatory and analgesic potential of *Caesalpinia ferrea*. *Revista Brasileira de Farmacognosia.*, v. 22, n. 1, p.169-175, 2012.

LIU, D.; COLOE, S.; BAIRD, R.; PEDERSEN, J. Molecular determination of dermatophyte fungi using the arbitrarily primed polymerase chain reaction. *B. J. Dermatol.*, 137:351-355, 1997.

LOPES, N. et al. Sulfated polysaccharide of *Caesalpinia ferrea* inhibits herpes simplex virus and poliovirus. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 60, p. 93-99, 2013.

LORENZI, H. & MATOS, F. J. A. *Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas*. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2002, 512p.

LORENZI, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil*. Nova Odessa: Instituto Plantarum. p. 162, 2002.

LORTHOLARY, O.L.; IMPROVISI, M.; NICOLAS, F; PROVOST, B.; DUPONT, DROMER, F. Fungemia during murine cryptococcosis sheds some light on pathophysiology. *Medical Mycology*. v.37:p.169–174, 1999.

MACIEL, A.S.; VIANA, J.A. Dermatofitose em cães e gatos. *Revista Clínica Veterinária*, v. 56, p.48-56, 2005.

MADRID, I. M.; XAVIER, M. O.; MATTEI, A. S.; FERNANDES, C. G.; GUIM, T. N.; SANTIN, R.; SCHUCH, L. F. D.; NOBRE, M. O.; MEIRELES, M. C. A. Role of melanin in the pathogenesis of cutaneous sporotrichosis. *Microbes and Infection*, v. 12, n. 2, p.162-165, 2010.

MAIA, G.N. *Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades*. São Paulo, D & Z Computação Gráfica e Editora. 2004.

MANCIANTI, F.; NARDONI, S.; CORAZZA.; DACHILLE, P.; PONTICELLI, C.; Environmental detection of *Microsporum canis* arthrospores in the households of infected cats and dogs. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v. 5, p. 323-328, 2003.

MARTINEZ, R. Atualização no uso de agentes antifúngicos. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*32(5): 449-60, 2006.

MARTINS, M.; KLUCZKOVSKI, A.M.; SOUZA, T.P.; PACHECO, C.; SAVI, G.D.; SCUSSEL, V.M. Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* by guaraná (*Paullinia cupana* Kunth) and jucá (*Libidibia ferrea* Mart) extracts. *African Journal of Biotechnology*. 13(1):131-137, 2014.

MATHIAS-MUNDY, E.; McCORKLE, C. Ethnoveterinary medicine and development: a review of the literature. In: WARREN, D.M.; SURRERWER, L.; BROSHENKA, D. *The cultural dimension of indigenous knowlege systems*. London: Intermediate Technology Publications. p.488-98, 1995.

MATOS, F.J.A. *plantas medicinais: guia de seleção e emprego das plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil*. UFC edições. 3 ed. p.232. 2007.

MATTHIEU, L.; DE DONCKER, P.; CAUWENBERGH, G.; WOESTENBORGH, R.; VAN DE VELDE, V.; JANSSEN, P.A.J.; DOCKX, P.

Itraconazole penetrates the nail via the nail matrix and the nail bed—an investigation in onychomycosis. *Clin. Exp. Dermatol.* v.16, p.374–376. 1991.

MATUSZEWSKI, K.; PARK, J. Itraconazole Pulse Therapy for Onychomycosis. *Jornal os Pharmacy Practice*, v. 10, n. 2, p. 101-104. 1997.

McCORKLE, C. An introduction to ethnoveterinary research and development. *Journal of Ethnobiology*, v.6, n.1, p.129-49, 1986.

McCORKLE, C. Veterinary anthropology. *Human Organization*, v.48, n.2, p.156-61, 1989.

MEIRELES M.C.A.; NASCENTE P.S. *Micologia Veterinária*. Ed. Universitária UFPEL, Pelotas, p.456. 2009.

MENDLEAU, L.; HNILICA, K. A. *Dermatologia de pequenos animais: Atlas colorido e guia terapêutico*. 1a Ed. Roca, 2003.

MENEZES, I.A.C.; MOREIRA, I.J.A.; CARVALHO, A.A.; ANTONIOLLI, A.R.; SANTOS, M.R.V. Cardiovascular effects of the aqueous extract from *Caesalpinia ferrea* Mart.: Involvement of ATP- sensitive potassium channels. *Vasc Pharmacol*, v. 47, p. 41-47, 1991.

MONGA, D.P.; MOHAPATRA L.N. A compilation of published reports of mycoses in animals in India. *Mycopathologia*, 72: 3-11, 1980.

MORIELLO, K. A. *Treatment of dermatophytosis in dogs and cats: review of published studies*. *European Society of Veterinary Dermatology*. v.15, p. 99-107, 2004.

NAKAI, T.; UNO, J.; IKEDA, F.; TAWARA, S.; NISHIMURA, K.; MIYAJI, M. In vitro antifungal activity of micafungin (FK463) against dimorphic fungi: comparison of yeast-like and mycelial forms. *Antimicrob. Agents Chemother*, v. 47, n. 4, p. 1376-1381, 2003.

NOBRE, M. O.; NASCENTE, P. S.; MEIRELES, M. M.; FERREIRO, L. Drogas antifúngicas para pequenos e grandes animais. *Ciência Rural*, v. 32, n. 1, p.175-184, 2002.

NOZAKI, H., HAYASHI, K., KIDO, M., KAKUMOTO, K., IKEDA, S., MATSUURA, N., TANI, H., TAKAOKA, D., LINUMAE, M., AKAOF, Y. Paufferol A, a novel chalcone trimer with a cyclubutane ring from *Caesalpinia ferrea* Mart. Exhibiting DNA topoisomerase II inhibition and apoptosis-inducing activity. *Tetrahedron Letters* 48, 8290-8292, 2007.

OLIVEIRA, F.C.S.; BARROS, R.F.M.; MOITA NETO, J.M. Plantas medicinais utilizadas em comunidades rurais de Oeiras, semiárido piauiense. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 12, n. 3, p. 288-301, 2010.

OLIVEIRA, M. F. S. de. *Bebendo na Raiz: Um estudo de Caso Sobre Saberes e Técnicas Mediciniais do Povo Brasileiro*. Tese de Doutorado. Centro de Desenvolvimento Sustentável. Universidade Federal de Brasília. Brasília, 2008.

OLIVEIRA, M.A.C. *Plantas medicinais utilizadas para problemas bucais: estudo etnobotânico em diferentes biomas da Paraíba*. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. 111p., 2010.

OLIVEIRA, M.J.R.; SIMÕES, M.J.S.; SASSI, C.R.R. Fitoterapia no Sistema de Saúde Pública (SUS) no Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.8, n. 2, p. 39-41, 2006.

OLIVEIRA, R.A.G.; SILVA, M.S.H. Plantas medicinais na atenção primária à saúde. João Pessoa: UFPB. 64p., 1994.

OLIVEIRA, R.G. Avaliação "in vivo" da ação antihelmíntica de plantas consideradas medicinais como recurso potencial no controle de endoparasitos gastrintestinais de ovinos. Dissertação (Mestrado) - PPGCV/UFRGS, Porto Alegre. 153p, 2003.

OUTERBRIDGE, C. A. Mycologic disorders of the skin. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*. v.21, p.128-134, 2006.

OZAKI, A. et al. Fitoterápicos utilizados na medicina veterinária em cães e gatos. *Revista Infarma*, v. 18, n. 11/12, 2006.

PAPPAS, P.; BRADSHER, G.R.; KAUFFMAN, C.A.; et al. Dismukes, and National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group. Treatment of blastomycosis with higher doses of fluconazole. *Clin Infect Dis*. 25:200-5, 1997.

PINHEIRO, A. Q., MOREIRA, L. B., SIDRIM, J. J. C. Dermatofitoses no meio urbano e a coexistência do homem com cães e gatos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 30(4), pp. 287-294. 1997.

QUEIROZ, L. P. de. Leguminosas da caatinga. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana: Royal Botanic Gardens, Kew: Associação Plantas do Nordeste, 2009

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; LEONARD, F.C.; HARTIGAN, P.; FANNING, S.; FITZPATRICK, E.S. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. 2nd ed. WileyBlackwell, Ames, Iowa. 928p. 2011.

ROQUE, A.A.; LOIOLA, M.I.B. Potencial de uso dos recursos vegetais em uma comunidade rural no semiárido potiguar. *Revista Caatinga*, v. 26, n. 4, p. 88-98, 2013.

SAMPAIO, F.C.; PEREIRA, M.S.V.; DIAS, C.S.; COSTA, V.C.O.; CONDE, N.C.O.; BUZALAF, M.A.R. 2009. In vitro antimicrobial activity of *Caesalpinia ferrea* Martius fruits against oral pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*, v.124, p.289–294, 2007.

SANTOS, J. I.; COELHO, M. P. P.; NAPPI, B. P. Diagnóstico laboratorial das dermatofitoses. *Revista Brasileira de Análises clínicas*, v. 34, p. 3-7, 2002.

SCHAFER-KORTING, M., KORTING, H., AMANN, F., PEUSER, R., LUKACS, A. Influence of albumin on itraconazole and ketoconazole antifungal activity, results of a dynamic in vitro study. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.35, 2053–

SCHAFER-KORTING, M.; KORTING, H.; RITTLER, W.; OBERMULLER, W.; Influence of serum protein binding on the *in vitro* activity of antifungal agentes infection, 23, 42-47. 1995.

SCHUBACH, T.M.P.; SCHUBACH, A.; OKAMOTO, T.; BARROS, M.B.L.; FIGUEIREDO, F.B.; CUZZI, T.; et al. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998–2001). *J Am Vet Med Assoc*. 2004 May; 224(10):1623-9.

SCHUBACH, T.M.P.; SCHUBACH, A.O.; REIS, R.S.; CUZZI-MAYA, T.; BLANCO, T.C.M.; MONTEIRO, D.F.; et al. *Sporothrix schenckii* isolated from domestic cats with and without sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil. *Mycopathologia*. 2002 Feb;153(2):83-6.

SCOTT, D.W.; MILLER, W.H.; GRIFFIN, C.E. Diagnostic Methods. In Muller and Kirk's Small Animal Dermatology. Ed 6. Philadelphia: W.B. Saunders Co. p. 71-206. 2001.

SHEEHAN, D.J.; HITCHCOCK, C.A. SIBLEY, C.M. Current and Emerging Azole Antifungal Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12, (1), p. 40-79. 1999.

SIDRIM J.J.C., ROCHA, M.F.G., *Micologia Médica à luz de autores contemporâneos*. Rio de Janeiro: Guanaba Koogan p. 135-161. 2004.

SILVA, A.C.O.; ALBUQUERQUE, U.P. Woody medicinal plants of the caatinga in the state of Pernambuco (Northeast Brazil). *Acta Botanica Brasilica* 19: 17-26, 2005.

SILVA, J.N.; PASSOS, S.R.L.; MENEZES, R.C.; GREMIÃO, I.D.F.; SCHUBACH, T.M.P.; OLIVEIRA, J.C. et al. Diagnostic accuracy assessment of cytopathological examination of feline sporotrichosis. *Medical Mycology*. Nov;53(8):880-4. 2015

SILVA, M.B.T.; COSTA, M.M.M; TORRES, C.C.S.; GALHARDO, M.C.G.; VALLE, A.C.S.; MAGALHÃES, M.A.F.M.; SABROZA, P.C.; OLIVEIRA, R.M. Esporotricose Urbana: Epidemia negligenciada no Rio de Janeiro, Brasil. *Cad Saúde Pública*. 28(10):1867-80. 2012

SOARES, J.A.; BARROS, M.; GONÇALEZ, W.P.; CRISCI, A.R.; SIMÕES JORGE, M.H. Avaliação da atividade cicatrizante da *Caesalpinia ferrea* ex. TUL. var *ferrea* e da *Aloe vera* (L.) Burm. f. em lesões cutâneas totais em ratos. *Perspectivas Online*, v.11, n.3, p. 33-42, 2013.

THE UNIVERSITY OF ADELAIDE. *Micology Online*. 2011. Disponível em <<http://www.micology.adelaide.edu.au/gallery/index.html>>. Acesso em: 24 abr. 2019.

TRAKRANRUNGSIE, N. Plant derived antifungals – trends and potential applications in veterinary medicine: A mini-review. In: *Science against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances* (Ed. A. Méndez-Vilas). Formatex Research Center, 2: 1195-1204, 2011.

VASCONCELOS, C.F.B. et al. Hypoglycaemic activity and molecular mechanisms of *Caesalpinia ferrea* Martius bark extract on streptozotocin-induced diabetes in Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 137, n. 3, p. 1533-1541, 2011

VIAUD, S.; BESIGNOR, E. Les dermatozoonoses du chien et du chat. *Prat Méd Chir Anim Comp*. 43(3):131-139, 2008.

WHEAT, J.; MARICHAL, P.; BOSSCHE, H. V.; LE-MONTE, A.; CONNOLLY, P. Hypothesis on the mechanism of resistance to fluconazole in *Histoplasma capsulatum*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 41, n. 2, p. 410-414, 1997.

WHITE, T. C.; FINDLEY, K.; JR, T. L. D.; SCHEYNIUS, A.; BOEKHOUT, T.; CUOMO, C. A.; SAUNDERS, C. W. *Fungi on the Skin : Dermatophytes and Malassezia*, 1– 16, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). The world medicines situation 2011. Traditional Medicines: global situation, issues and challenges. Geneva: WHO, 14p. 2011.

WYREPKOWSKI, C. C. Estudo químico e atividades mutagênica e antirradicalar de *Caesalpineia ferrea*. Tese (Doutorado) – Instituto Federal de Mato Grosso, Araraquara, 2014.

XIMENES, N. C. A. Purificação e caracterização da lectina da vagem de *Caesalpinia ferrea* (CfePL): Aplicação biológica. 2004. 60f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2004.

ZAITS, C. Dermatofitoses. In: ZAITS, C.; CAMPBELL, I.; MARQUES, S., A.; RUIZ, L. R. B.; FRAMIL, V. M. S. Compêndio de micologia médica. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2010. cap. 15, p. 157-167.

ZANIN, J. L. B; CARVALHO, B.A; MARTINELLI, P. S; SANTOS; M.H; LAGO, J. H. G & SARTORELLI, P. The genus *Caesalpinia* L. (Caesalpinaceae): Phytochemical and Pharmacological Characteristics. *Molecules* 17 (7887-7902).

5. ARTIGO 1

Atividade antifúngica *in vitro* de *Libidibia ferrea* Mart. contra dermatófitos e *Sporothrix* spp.

1 **Atividade antifúngica *in vitro* de *Libidibia ferrea* Mart. contra dermatófitos e *Sporothrix***
2 **spp.**

3
4 **Resumo:** Dermatófitos e *Sporothrix* spp. causam as dermatomicoses mais frequentes em cães
5 e gatos. A fitoterapia pode ser uma alternativa para o tratamento destas afecções. Objetivou-se
6 com este estudo descrever a ação do extrato bruto da folha da *Libidibia ferrea* e suas frações
7 (acetato, hexânica e metanol-água), além de comparar os resultados com os antifúngicos
8 sintéticos frente a *Sporothrix* spp. e fungos dermatófitos. Das 18 amostras testadas, cinco foram
9 de *Sporothrix* spp., sete de *Microsporium canis*, três de *Miscrosporium gypseum* e três de
10 *Trichophyton mentagrophytes*, provenientes de cães e gatos. Os resultados obtidos nesse estudo
11 demonstram que o extrato bruto e a fração metanol:água das folhas na concentração de 60
12 µg/mL *L. ferrea* Mart. possui ação antifúngica contra os isolados de *Sporothrix* spp. e
13 *Trichophyton mentagrophytes* e pode ser considerada em formulações para o tratamento tópico
14 dessas afecções após a comprovação de sua eficácia em testes *in vivo*. A resistência dos isolados
15 de fungos estudados levanta um alerta sobre tratamentos realizados de forma inadequadas
16 destas enfermidades que podem causar a resistência fúngica.

17

18 **Palavras-chave:** Dermatofitose, esporotricose, pau-ferro, extratos, antifúngicos.

19

20 **Introdução**

21 A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que cerca de 80% da população
22 mundial recorra a plantas medicinais para atenção básica em saúde (WHO, 2011). Na medicina
23 veterinária, as plantas medicinais são utilizadas no tratamento de afecções por ser opção viável,
24 de fácil obtenção e baixo custo, sendo considerada uma alternativa de cura menos agressiva ao
25 paciente.

26 A fitoterapia, além de outras aplicações, é utilizada no tratamento de micoses cutâneas
27 que acometem cerca de 25% da população humana mundial (HAVLICKOVA, 2008), sendo
28 frequentemente associados a fungos dermatófitos (WHITE et al., 2014). Em animais, as
29 dermatofitoses são um desafio para a saúde pública, visto que são zoonoses e requerem um
30 tratamento prolongado e dispendioso (TRAKRANRUNGSIE, 2011).

31 Além dos dermatófitos, os fungos pertencentes ao complexo *Sporothrix schenckii*
32 também são relevantes na saúde pública, devido seu extenso e oneroso tratamento
33 (MOEHLECKE, 2013). Os fungos causadores da esporotricose, causam micoses profundas de
34 caráter subagudo ou crônico (BARROS et al., 2001).

35 Na rotina clínica de pequenos animais, a dermatofitose e esporotricose possuem uma
36 grande significância na rotina clínica de pequenos animais, sendo o *Microsporum canis* descrito
37 em diferentes estados da região nordeste como a causa mais comum de dermatofitoses em cães
38 e gatos (SIDRIM, ROCHA, 2004).

39 O bioma caatinga pertence a região do semiárido do nordeste brasileiro (LIMA, 2011)
40 possui grande diversidade de espécies (OLIVEIRA et al., 2006). A *Libidibia ferrea* Mart. (jucá
41 ou pau-ferro) se destaca por ser amplamente utilizada na medicina popular por suas inúmeras
42 propriedades terapêuticas. Estudos comprovaram o potencial antimicrobiano da planta frente
43 ao *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. (FARIAS, 2013).

44 Objetivou-se nesse estudo avaliar a ação do extrato bruto e das frações acetato, hexânica
45 e metanol-água da *Libidibia ferrea* Mart. frente a fungos causadores de micoses superficiais e
46 profundas, comparando os resultados com os antifúngicos sintéticos.

47

48

49

50

51 **Material e Métodos**

52 **Amostragem e local de estudo**

53 Foram utilizadas amostras por conveniência de 18 animais (caninos e felinos)
54 procedentes do atendimento clínico do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural de
55 Pernambuco (HOVET-UFRPE) com suspeita clínica de dermatomicose e esporotricose,
56 independente do sexo ou idade. Foram incluídos nessa pesquisa cinco isolados de *Sporothrix*
57 spp., sete isolados de *Microsporium canis*, três de *Miscrosporium gypseum* e três de
58 *Trichophyton mentagrophytes*. O experimento foi realizado após autorização da Comissão de
59 Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFRPE, através da licença de número 17/2018.

60

61 **Coleta e processamento das amostras biológicas**

62 Amostras de pelo e escamas de cães e gatos com sinais clínicos de dermatopatias
63 micóticas, além de amostras de lesões na pele com a utilização de *swabs* estéreis foram
64 coletadas e armazenadas até o momento do processamento (LACEN, 2019).

65 As amostras de pelos e escamas foram semeadas em placas de Petri esterilizadas
66 contendo ágar Sabouraud suplementado com cloranfenicol a 0,04% e cicloheximida a 0,4%.
67 Em seguida, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 25°C por um período de
68 quatro a sete dias, até a formação das colônias. Posteriormente foi realizada identificação das
69 colônias filamentosas pela técnica da fita adesiva com a utilização do corante de azul de
70 metileno.

71 Para preservação dos isolados as amostras foram mantidas refrigeradas em solução
72 estéril de NaCl 0,85% (CASTELLANI, 1939).

73

74

75

76 **Coleta do material botânico**

77 Amstras de *Libidibia ferrea* Mart. foram adquiridas no Departamento de Engenharia
78 Florestal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) localizada na cidade do
79 Recife, Pernambuco, tendo sido coletadas 433,78g de folhas. A identificação botânica foi
80 realizada e depositada no Herbarium Professor Vasconcelos Sobrinho da UFRPE, sob o número
81 de tombo da exsicata 54268.

82 **Obtenção do extrato bruto**

83 As folhas da planta foram desidratadas em estufa a 40°C e posteriormente trituradas em
84 moinho. Em seguida, as amostras foram pesadas e os extratos obtidos a partir de 286,68g das
85 folhas foram mantidos em solução contendo 1L de solução hidroalcolica a 80% em temperatura
86 ambiente (DUARTE et al., 2004). As amostras permaneceram nessa solução *overnight* e em
87 seguida a solução foi filtrada em papel filtro e concentrada em evaporador rotatório sob pressão
88 reduzida em temperatura de 45°C a 120 rotações por minuto (rpm). Este processo foi repetido
89 diariamente até que a solução atingisse uma coloração translúcida. O extrato foi refrigerado em
90 recipiente de vidro até o momento de seu uso.

91

92 **Partição do extrato**

93 O extrato foi fracionado por partição líquido-líquido. Para realizar as partições, 10g do
94 extrato hidroalcolico foram solubilizados em metanol-água (MeOH:H₂O) e extraídos até que
95 o solvente atingisse a coloração translúcida com cada um dos solventes utilizados na partição.
96 As partições foram realizadas com acetato de etila, hexano e metanol-água. Este procedimento
97 permitiu uma separação preliminar dos constituintes químicos para a avaliação da atividade
98 fungicida.

99

100

101 **Determinação da concentração dos antifúngicos sintéticos**

102 Nessa pesquisa foram empregados os antifúngicos: anfotericina B, itraconazol,
103 fluconazol e terbinafina, nas concentrações de 2 µg/mL (SABATELLI et al., 2006), 16 µg/mL,
104 64 µg/mL (NGUYEN; YU, 1998) e 32 µg/mL (DIAZ et al., 2002), respectivamente,
105 solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 1%.

106

107 **Determinação da sensibilidade das amostras obtidas**

108 A avaliação da sensibilidade à *L. ferrea* foi baseada na técnica de difusão em ágar. As
109 concentrações de seu extrato bruto e demais frações foram 60, 30, 15 µg/mL solubilizados em
110 DMSO a 1%.

111 Os testes foram realizados adicionando-se assepticamente, 60, 30 e 15 µg/mL do extrato
112 bruto das folhas, bem como suas partições, separadamente, em 7mL do meio de cultura ágar
113 batata a uma temperatura de 40°C. O meio foi suavemente misturado e vertido em placas de
114 Petri de plástico de 6cm de diâmetro. As placas foram deixadas em repouso por 1h em
115 temperatura ambiente (QUIROGA et al., 2001). O mesmo procedimento foi realizado para os
116 antifúngicos utilizados.

117 Foi adicionado 50µL de cada amostra na superfície das placas contendo os diferentes
118 extratos, frações e os antifúngicos sintéticos, além de uma placa contendo apenas ágar batata e
119 outra contendo DMSO a 1% dissolvido ao meio para controle de cada amostra.

120

121 **Análise estatística**

122 Para analisar as diferenças estatísticas entre os tratamentos com as diferentes
123 concentrações da planta (extrato e frações) com os microrganismos testados foi utilizado o teste
124 Qui-quadrado com um nível de significância $p \leq 0,05$.

125

126 **Resultados**

127 Os resultados dos testes de sensibilidade e resistência para as diferentes concentrações
 128 do extrato e frações de *L. ferrea* assim como os resultados da análise de sensibilidade e
 129 resistência dos diferentes isolados frente aos antifúngicos sintéticos estão apresentados nas
 130 Tabelas 1 e 2.

131
 132 **Tabela 1.** Resultado das análises de sensibilidade dos fungos dermatófitos e do *Sporothrix* spp. frente
 133 ao extrato e frações de *L. ferrea* nas diferentes concentrações da planta.
 134

		<i>Sporothrix</i> spp.	<i>M. canis</i>	<i>M. gypseum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>
15 µg/mL	Extrato Bruto	2/5			3/3
	Fração Acetato	2/5			3/3
	Fração Hexânica	2/5			3/3
	Fração MeOH:H ₂ O	2/5			3/3
30 µg/mL	Extrato Bruto	2/5			3/3
	Fração Acetato	1/5			3/3
	Fração Hexânica	2/5			3/3
	Fração MeOH:H ₂ O	2/5			3/3
60 µg/mL	Extrato Bruto	5/5	4/7	2/3	3/3
	Fração Acetato		4/7	1/3	3/3
	Fração Hexânica		4/7	2/3	3/3
	Fração MeOH:H ₂ O	5/5	4/7	2/3	3/3
Ágar Batata*					
DMSO 1%*					

135 *Controles

136
 137 Os resultados demonstraram que a presença de 1% de DMSO adicionado ao meio não
 138 afetou o crescimento dos fungos. O extrato bruto e a fração metanol-água de *L. ferrea*
 139 apresentaram ação fungicida contra todos os isolados de *Sporothrix* spp. e *T. mentagrophytes*
 140 testados na concentração de 60 µg/mL. Para *T. mentagrophytes*, todas as concentrações do
 141 extrato e das frações apresentaram atividade antifúngica.

142 Para *M. canis* e *M. gypseum* nenhuma concentração do extrato bruto e das frações
 143 apresentou atividade para inibir o crescimento de todos os isolados, mas na concentração de 60
 144 µg/mL, houve alguma atividade para essas espécies de dermatófitos.

145 **Tabela 2.** Resultado das análises de sensibilidade dos fungos dermatófitos e do *Sporothrix* spp. frente
 146 antifúngicos nas diferentes concentrações da planta.
 147

		<i>Sporothrix</i> spp.	<i>M. canis</i>	<i>M. gypseum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>
ANTIFÚN.	Anfotericina B (2 µg/mL)	1/5	4/7	2/3	3/3
	Terbinafina (32 µg/mL)	5/5	4/7	2/3	3/3
	Itraconazol (16 µg/mL)	2/5			3/3
	Fluconazol (64 µg/mL)	2/5			3/3
	Ágar Batata*				
	DMSO 1%*				

148 *Controles
 149

150 Em relação as drogas antifúngicas sintéticas, a terbinafina foi a única que apresentou a
 151 mesma atividade antifúngica observada para o extrato bruto e fração MeOH:H₂O de *L. ferrea*
 152 na concentração de 60µ para os isolados de *Sporothrix* spp. e *T. mentagrophytes*. No entanto os
 153 demais antifúngicos utilizados no tratamento da esporotricose e dermatofitose também
 154 demonstraram algum efeito frente as amostras testadas.

155 De acordo com os resultados obtidos na análise estatística, a concentração de 60 µg/mL
 156 foi a mais eficaz para inibir o crescimento de *M. canis* quando comparado com as demais
 157 concentrações (Tabela 3). Também foi possível observar que a anfotericina B e a terbinafina
 158 apresentaram melhores resultados para inibir o crescimento desse fungo (p=0,010).

159 **Tabela 3.** Análise estatística de associação do extrato bruto e frações nas diferentes concentrações
 160 obtidas a partir das folhas da *L. ferrea*.
 161
 162

	<i>Sporothrix</i> spp.	<i>M. canis</i>	<i>M. gypseum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>
Extrato Bruto	p = 0,082	p = 0,007	p = 0,076	
Fração Acetato	p = 0,286	p = 0,007	p = 0,234	
Fração Hexânica	p = 0,255	p = 0,007	p = 0,076	
Fração MeOH:H₂O	p = 0,082	p = 0,007	p = 0,076	

163

164 **Discussão**

165 Nos animais domésticos, a esporotricose é diagnosticada frequentemente nos gatos na
 166 forma cutânea localizada, cutânea linfática e cutânea disseminada (XAVIER et al. 2004). Nos

167 casos graves, as manifestações sistêmicas da doença podem ocorrer nos pulmões, linfonodos
168 internos, fígado, baço e rim (SCHUBACH et al., 2002; PAES, 2007).

169 No Brasil, essa doença é considerada endêmica no Rio de Janeiro e no Rio Grande do
170 Sul (PEREIRA et al., 2014). Mais recentemente, a doença passou a ser um problema de saúde
171 animal e pública no estado de Pernambuco, sendo o primeiro surto de esporotricose em felinos
172 relatado por Silva et al. (2018) que analisaram casos da doença em felinos em alguns municípios
173 da região metropolitana do Recife e discutiram que a enfermidade está disseminada nessa
174 região. O tratamento desta enfermidade geralmente é feito com antifúngicos sintéticos como o
175 itraconazol (GREMIÃO et al., 2015), que nesse estudo demonstrou atividade antifúngica
176 limitada para os isolados obtidos nesta mesma região.

177 Os fitoterápicos também já foram utilizados no tratamento de lesões cutâneas causadas
178 por fungos do complexo *Sporothrix schenckii* (GIORDANI et al., 2016) sem referência da
179 utilização de *L. ferrea* para fungos desse complexo. Em 1997, Lima et al. estudaram o efeito *in*
180 *vitro* de *L. ferrea* por meio do teste de difusão em ágar e verificaram que o extrato aquoso e
181 etanólico desta planta inibiu o crescimento de isolados clínicos de *T. rubrum*, *T.*
182 *mentagrophytes*, *M. canis* e *E. floccosum*. Martins et al. (2014) verificaram que nenhum dos
183 tratamentos em diferentes concentrações do extrato bruto da *L. ferrea* apresentou inibição
184 completa contra *Aspergillus parasiticus*.

185 Embora existam relatos anteriores sobre a variação da atividade antifúngica de produtos
186 vegetais contra diferentes espécies de determinado gênero fúngico (PRAKASH et al., 2010;
187 SHUKLA et al., 2009), não existem dados na literatura quanto a sua eficácia frente a uma
188 determinada espécie de fungo (MARTINS et al., 2014). Os resultados obtidos no nosso estudo
189 demonstram que o extrato da planta e a fração metanol-água apresentaram resultado bastante
190 promissor frente aos fungos do complexo *Sporothrix schenckii* na maior concentração e também
191 para *T. mentagrophytes* em todas as concentrações estudadas.

192 Alguns estudos demonstraram atividade antifúngica de compostos naturais extraídos de
193 diferentes fontes como plantas medicinais tradicionais de Tamil Nadu, Índia,
194 (DURAI PANDIYAN; IGNACIMUTHU, 2011), espécies cítricas (SALAS et al., 2011),
195 *Candida axillaris* Roxb. óleo essencial (MISHRA et al., 2012), óleo essencial doce (SHUKLA
196 et al., 2012), óleo essencial de *C. virosa* (TIAN et al., 2012). No que se refere ao estudo da
197 atividade antifúngica de *Libidibia ferrea* frente a fungos dermatófitos, ainda existem poucos
198 estudos registrados na literatura. Nesse sentido, nossa pesquisa foi pioneira no estudo da ação
199 da *Libidibia ferrea* Mart. frente a *Sporothrix* spp. Contudo, esse ainda foi o primeiro passo para
200 que outros estudos com maior número de amostras possam ser realizados nas mesmas condições
201 desse estudo.

202 Estudos fitoquímicos do extrato hidroalcoólico da casca, caule e folhas de *Libidibia*
203 *ferrea* evidenciaram a presença de flavonóides, saponinas, taninos, cumarinas, esteróides e
204 outros compostos fenólicos (VASCONCELOS et al., 2011). Estes compostos possuem
205 propriedades antimicrobianas, antioxidantes e antifúngica (BOUDET, 2007). Essas atividades
206 podem decorrer da presença de taninos, flavonóides e terpenóides em sua composição
207 (SIQUEIRA et al., 2012).

208 De acordo com Fernández-Torres et al. (2001), o fluconazol apresenta uma atividade
209 antifúngica mais reduzida quando comparada à terbinafina e ao itraconazol no tratamento de
210 dermatófitos. Também observaram que *T. rubrum* é mais suscetível ao fluconazol do que *M.*
211 *canis*, *M. gypseum* e *T. mentagrophytes*. Perea et al. (2001) constataram que a terbinafina é o
212 antifúngico com a ação *in vitro* mais eficiente sobre os dermatófitos e isso também foi
213 verificado em nosso estudo, embora alguns isolados de *M. canis* e *M. gypseum* também
214 apresentaram resistência a esse antifúngico. Considerando que alguns isolados foram
215 multirresistentes aos antifúngicos estudados, recomenda-se a realização de antifungigrama nos
216 isolados clínicos para evitar a resistência dessas espécies fúngicas.

217 Além do agravo da resistência, medicamentos sintéticos podem provocar alguns efeitos
218 colaterais adversos. Os antifúngicos utilizados nesse estudo podem causar distúrbios digestivos
219 (náuseas, vômitos, diarreia) e/ou problemas cutâneos (urticária, prurido). Oswald et al. (2007)
220 relataram que após utilização de fluconazol, itraconazol ou terbinafina foram observadas
221 disfunções hepáticas graves. Assim, a utilização desses antifúngicos deverá considerar não só
222 a atividade *in vitro*, mas também os possíveis efeitos adversos que poderão surgir associados à
223 medicação.

224

225 **Conclusão**

226 Os resultados obtidos nesse estudo demonstram que a *L. ferrea* Mart. possui ação
227 antifúngica contra os isolados de *Sporothrix* spp. e *Trichophyton mentagrophytes* e pode ser
228 considerada em formulações para o tratamento tópico dessas afecções após a comprovação de
229 sua eficácia em testes *in vivo*. A resistência dos isolados de fungos estudados levanta um alerta
230 sobre tratamentos realizados de forma inadequada destas enfermidades que podem causar a
231 resistência fúngica.

232

233

234

235

236

237

238

239

240

241

242 Referências

- 243 Barros MBL, Schubach TMP, Gutierrez-Galhardo MC, et al. Sporotrichosis: an emergent
244 zoonosis in Rio de Janeiro. Mem Inst Oswaldo Cruz 96(6): 777-779, 2001.
- 245 Boudet AM. Evolution and current status of research in phenolic compounds. Phytochemistry,
246 Saint Paul, v. 68, n. 22/24, p. 2722-2735, 2007.
- 247 Castellani A. The viability of some pathogenic fungi in sterile distilled water. J Tropical
248 Medicine and Hygiene, Oxford, v. 42, n.3, p. 225-226, 1939.
- 249 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference Method for Broth Dilution
250 Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. 2002; M27-A2. 3rd.ed. Wayne, Pa, USA.
- 251 Diaz NL, Zerpa O, Ponce LV, Convit J, Rondon AJ, Tapia FJ. Intermediate or chronic cutaneous
252 leishmaniasis: leukocyte immunophenotypes and cytokine characterization of the lesion. Exp
253 Dermatol, v.11, p. 34-41. 2002.
- 254 Duarte C, et al. Supercritical fluid extraction of red pepper (*Capsicum frutescens* L.). The J of
255 Supercritical Fluids, v. 30, n. 2, p. 155-161, 2004.
- 256 Duraipandiyar V, Ignacimuthu S. Antifungal activity of traditional medicinal plants from
257 Tamil Nadu, India. Asian Pacific J of Tropical Biomedicine, v. 1(2), p. S204-S215, 2011.
- 258 Farias ETN. Atividade Antimicrobiana in vitro do Extrato de Etanólico de *Caesalpinia ferrea*
259 Mart. (Leguminosae). Dissertação de Mestrado. Programa de Pósgraduação em Biociência
260 Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2013, 40 f.
- 261 Fernandez-Torres B, Carrillo AJ, Martin E, et al. In vitro of 10 antifungal drugs against 508
262 dermatophytes strains. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 459, p. 2524-2528, 2001.
- 263 Giordani, C., Matos, C. B., Guterres, K. A. & Cio, C. Potentially toxic and medicinal plants
264 from community assisted in UFPel Veterinary Clinic. Revista Brasileira de Ciência Veterinária,
265 23(3-4):126-132. 2016.
- 266 Gremião IDF, et al. Feline sporotrichosis: epidemiological and clinical aspects. Medical
267 Mycology. 53(1): 15-21, 2015.
- 268 Guedes AR, et al. Fitoterapia na medicina veterinária. Tópicos especiais em Ciência Animal
269 V. 1ª ed. Alegre-ES, Caufes. 2016.
- 270 Havlickova B, Czaika VA, Friedrich M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide.
271 Mycoses. 51 (Suppl. 4), 2-15, 2008.
- 272 LACEN – Laboratório Central de Saúde Política do Estado. Manual de coleta,
273 acondicionamento e transporte de amostras. Ceará, Brasil. p. 98-100, 2019.
- 274 Lima BG. Caatinga: espécies lenhosas e herbáceas. Mossoró: Editora Ufersa, 2011.
- 275 Lima EC, et al. Atividade antifúngica de extratos obtidos de espécies de leguminosae contra
276 dermatófitos. Revista Brasileira de Ciências da Saúde, v.1, n.1/3, p.53-6, 1997.
- 277 Maar TW. ¿Qué contienen esas botellas?. Ceres, v.24, n.4, p.40-5, 1992.

- 278 Martins M, Kluczkovski, AM, Souza TP, et al. Inhibition of growth and aflatoxin production
279 of *Aspergillus parasiticus* by guaraná (*Paullinia cupana* Kunth) and jucá (*Libidibia ferrea* Mart)
280 extracts. *Afr. J. Biotech.* 13(1):131-137, 2014.
- 281 Mishra PK, Shukla R, Singh P, Prakash B, Kedia A, Dubey NK. Antifungal, anti-aflatoxicogenic,
282 and antioxidant efficacy of *Jamrosia* essential oil for preservation of herbal raw materials. *Int.*
283 *Biodeterior.* Biodegrad.74:11-16. 2012.
- 284 Moehlecke R. Veterinários combatem a esporotricose. *Revista de Manguinhos*, p. 22-23. 2013.
- 285 Nguyen, M.H; Yu, C.Y. In vitro comparative efficacy of voriconazole and itraconazole against
286 fluconazole susceptible and resistance *Cryptococcus neoformans* isolates. *Antimicrob Agents*
287 *Chemother* 42: 471-772. 1998.
- 288 Oliveira MJR, Simões MJS, Sassi CRR. Fitoterapia no Sistema de Saúde Pública (SUS) no
289 Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.8, n. 2, p. 39-41, 2006.
- 290 Oswald, S.; Grube, M.; Siegmund, W.; Kroemer, H.K. Transporter-mediated uptake into
291 cellular compartments. *Xenobiotica.* 37:1171-1195. 2007.
- 292 Paes R.A. 2007. Antígenos e anticorpos na esporotricose: caracterização e aplicações
293 diagnósticas, Dissertação de Mestrado, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 86p.
- 294 Perea S, Forthergill A, Sutton DA, Rinaldi MG. Comparasion of *in vitro* activities of
295 voriconazole and five established antifungal agentes against different species of
296 dermatophytes using a broth macrodilution method. *Antimicrob Agents Chemother*, v. 39, n
297 1, p. 385-388. 2001.
- 298 Pereira AS, Gremião IDF, Kitada AA, et al. The epidemiological scenario of feline
299 sporotrichosis in Rio de Janeiro, State of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.*
300 47(3):392-393. 2014.
- 301 Prakash B, Shukla R, Singh P, Kumar A, et al. Efficacy of chemically characterized Piper betle
302 *L.* essential oil against fungal and aflatoxin contamination of some edible commodities and its
303 antioxidant activity. *Int. J. Food Microbiol.* 142, 114–119. 2010.
- 304 Quiroga EN, Sampietro AR, Vattuone MA. Screening antifungal activities of selected
305 medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, v.74, p. 89-96, 2001.
- 306 Sabatelli, F, PATEL, P, MANN, C, et al. *In vitro* activities of posaconazole, fluconazole,
307 itraconazole, voriconazole, and amphotericin B against a large collection of clinically important
308 molds and yeasts. *Antimicrob Agents Chemother*; v. 50, n 2, p 2009-2015. 2006.
- 309 Salas MP, Celiz G, Geronazzo H, Daz M, Resnik SL. Antifungal activity of natural and
310 enzymatically-modified flavonoids isolated from citrus spices. *Food Chemistry* 124 (2011)
311 1411–1415.
- 312 Schubach, T.M.; Schubach, A.; Reis, R.S.; et al. *Sporothrix schenckii* isolated from domestic
313 cats with and without sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil. *Mycopathologia* 153(2):83-86.
314 2002.

- 315 Shukla R, Singh P, Prakash B, Dubey NK. Antifungal, aflatoxin inhibition and antioxidant
316 activity of *Callistemon lanceolatus* (Sm.) Sweet essential oil and its major component 1,8-
317 cineole against fungal isolates from chickpea seeds. *Food Control* 25:27-33. 2012.
- 318 Shukla, R. et al. Efficacy of *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown essential oil and its monoterpenes
319 aldehyde constituents against fungi isolated from some edible legume seeds and aflatoxin B1
320 production. *International Journal of Food Microbiology*, v. 135, p.165-170, 2009.
- 321 Silva GM, et al. Surto de esporotricose felina na região metropolitana do Recife. *Pesq. Vet.*
322 *Bras.*, Rio de Janeiro, v. 38, n. 9, p. 1767-1771, set. 2018.
- 323 Siqueira JM, et al. Centro de Informação sobre Medicamentos, Plantas Medicinais e Tóxicas.
324 11 ed. Divinópolis, MG: Ed. da UFSJ, 2012.
- 325 Tian J, Huang B, Luo X, Zeng H, Ban X, He J, Wang Y. The control of *Aspergillus flavus* with
326 *Cinnamomum jensenianum* Hand.-Mazz essential oil and its potential use as a food
327 preservative. *Food Chem.* 130:520-527. 2012.
- 328 Trakranrungsie N. Plant derived antifungals – trends and potential applications in veterinary
329 medicine: A mini-review. In: *Science against Microbial Pathogens: Communicating Current*
330 *Research and Technological Advances* (Ed. A. Méndez-Vilas). Formatex Research Center, 2:
331 1195-1204, 2011.
- 332 Vasconcelos CFB, et al. Hypoglycaemic activity and molecular mechanisms of *Caesalpinia*
333 *ferrea* Martius bark extract on streptozotocin-induced diabetes in Wistar rats. *Journal of*
334 *Ethnopharmacology*, v. 137, n. 3, p. 1533-1541, 2011.
- 335 White TC, Findley K, JR TLD, et al. *Fungi on the Skin : Dermatophytes and Malassezia*, 1– 16,
336 2014.
- 337 World Health Organization (WHO). *The world medicines situation 2011. Traditional*
338 *medicines: global situation, issues and challenges*. Geneva: WHO, 14p. 2011.
- 339 Xavier MO, Nobre MO, Sampaio Junior DP, et al. Esporotricose felina com envolvimento
340 humano na cidade de Pelotas, RS, Brasil. *Ciência Rural* 34(6):1961-1963. 2004.