



Efeito dos Óleos Essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Melaleuca alternifolia* sobre Isolados de *Aspergillus* sp.

Effect of Essential Oils of *Syzygium aromaticum* and *Melaleuca alternifolia* on Isolates of *Aspergillus* sp.

A. Lima¹; A. S. Ribeiro¹; S. M. Bonaldo¹⁺

¹ Universidade Federal de Mato Grosso, Campus Sinop
+Autor correspondente: sbonaldo@ufmt.br

Resumo

Óleos essenciais possuem substâncias antimicrobianas, menor custo e menor resistência do microrganismo. Este estudo teve como objetivo avaliar a inibição do crescimento micelial de *Aspergillus flavus* e *A. niger* com uso dos óleos essenciais *Syzygium aromaticum* and *Melaleuca alternifolia*. Para isto, alíquotas (0,5; 5; 10 e 15µL) dos óleos essenciais de *S. aromaticum* e de *M. alternifolia* foram distribuídas sobre a superfície de meio de cultura Batata-Déxtrose-Ágar (BDA) com alça de Drigalsky. No controle foram utilizadas placas contendo BDA, acrescido de cloranfenicol (1%). Após 2 horas, um disco (8mm de diâmetro) de micélio dos isolados, com 10 dias de idade em BDA, foi repicado para o centro das placas, estas placas foram vedadas e incubadas a 28±2°C, no escuro. O óleo de *S. aromaticum* inibiu o crescimento micelial de *A. flavus*, e *A. niger* em todas as alíquotas. Quando utilizado o óleo essencial de *M. alternifolia* houve redução do crescimento micelial do *A. flavus* em todas as alíquotas, porém apresentou baixa eficiência no controle de *A. niger*. Conclui-se que *S. aromaticum* é eficaz no combate a *A. flavus*, e *A. niger*, podendo ser utilizado no controle a esses microrganismos, e *M. alternifolia* não apresentou resultados satisfatórios em relação à redução do crescimento dos patógenos avaliados.

Palavras-chaves: Onicomicoses; Terapia alternativa; Antifúngico.

Abstract

Essential oils have antimicrobial substances, lower cost and the lower resistance of microorganism. This study aimed to evaluate the inhibition of mycelial growth of *Aspergillus flavus* and *A. niger* with essential oils of *Syzygium aromaticum* and *Melaleuca alternifolia*. For this, aliquots (0.5, 5, 10 and 15µL) of essential oils from *S. aromaticum* and *M. alternifolia* were distributed on the surface of the culture medium Potato Dextrose Agar (PDA) with Drigalsky. In the control treatment were used only plates containing PDA plus chloramphenicol (1%). After 2 hours, a disc (8mm diameter) of the isolated mycelium, with 10 days of age on PDA, was peaked to the center of the plates, these plates were sealed and incubated at 28±2°C, in the dark. The essential oil of *S. aromaticum* inhibited the mycelial growth of *A. flavus* and *A. niger*, in all aliquots. When using the essential oil of *M. alternifolia* decreased the mycelial growth of *A. flavus* in all aliquots, however, showed a low efficiency in control of *A. niger*. It was concluded that the essential oil *S. aromaticum* is effective against *A. flavus* and *A. niger*, which can be used in control against these microorganisms, and *M. alternifolia* not show satisfactory results in relation to reducing the growth of pathogens evaluated.

Keywords: Onychomycosis; Alternative therapy; Antifungal.

Introdução

Atualmente o cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) tem sido usado popularmente no tratamento de muitas doenças (PAOLI et al., 2007), assim como o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, que é constituído principalmente por terpenoides e, na Austrália é utilizado por tribos aborígenes há mais de 80 anos e tem sido investigado quanto às suas propriedades farmacológicas (HAMMER, CARSON e RILEY, 2004).

O óleo de *S. aromaticum* tem sido utilizado na medicina além da culinária desde a antiguidade e o principal componente do cravo-da-Índia é o eugenol que apresenta propriedades potencias de nematicida, bactericida, e fungicida (DEUS, ALVES e ARRUDA, 2011). Enquanto que *M. alternifolia* se mostrou eficaz em diversas concentrações para leveduras do gênero *Candida*; com 100% de sensibilidade para candidose bucal. Demonstrando poder antifúngico, despertando o interesse para o desenvolvimento de novos fármacos (COSTA et al., 2010). Vários autores relatam atividade antifúngica do óleo essencial de *M. alternifolia*, utilizando vários parâmetros constituintes do produto natural (CAVALCANTI, ALMEIDA e PADILHA, 2011).

Das infecções, as fúngicas correspondem até 10%, sendo que *Candida* e *Aspergillus* são os microrganismos predominantes (KOSHI e CHERIAN, 1995). A terapia para fungos é prolongada e específica devido à dificuldade de diagnóstico diferindo das infecções causadas por bactérias ficando limitado a gama de antimicrobianos contra os fungos. Com isso, ocorre à busca de antimicrobianos de origem vegetal, devido ao fato de que possam ser mais eficientes no tratamento de micoses e apresentarem menos toxicidade ao indivíduo (FARNSWORTH, 1996). A infecção fúngica das unhas representa 20% desse tipo de doença sendo uma das mais frequentes onicopatias no mundo. Há uma ampla diversidade de formas clínicas e agentes etiológicos das onicomicoses que são as micoses superficiais com difíceis

diagnósticos e tratamento (ARAÚJO et al., 2003). Existe uma longa lista de fungos não dermatófilos isolados de unhas e apenas alguns causam onicomicoses, sendo que destes o *Aspergillus* faz parte constituindo uma longa lista (TOSTI, PIRRACCINI e LORENZI, 2000).

Conforme Cavalcanti, Almeida e Padilha (2011) a utilização dos óleos essenciais como substância antimicrobiana se justifica pelo menor custo e menor resistência microbiana. Estes autores relatam ainda que os estudos na literatura são escassos quanto às concentrações inibitórias e fungicida desses produtos, havendo necessidade de aprofundar as investigações sobre a atividade antifúngica, com o objetivo de justificar e validar o uso clínico dos óleos essenciais.

Nos dias atuais houve um aumento na utilização de produtos de origem natural em várias áreas, como por exemplo, na área de saúde e com destaque também na agricultura devido à conscientização ecológica e preservação ambiental. Os vegetais podem ser fontes de bio-herbicidas, fungicidas, entre outros.

A terapia para fungos é prolongada e específica devido à dificuldade de diagnóstico diferindo das infecções causadas por bactérias ficando limitado a gama de antimicrobianos contra os fungos. Com isso, ocorre à busca de antimicrobianos de origem vegetal, devido ao fato de que possam ser mais eficientes no tratamento de micoses e apresentarem menos toxicidade ao indivíduo (FABRICANT, 2001).

Diante disto, verificou-se a ação antifúngica de diferentes concentrações do óleo essencial de *S. aromaticum* e *M. alternifolia*, em isolados de *A. flavus* e *A. niger* para serem usados como terapia alternativa em onicomicose.

Métodos

A avaliação do óleo essencial de cravo-da-índia sobre o crescimento micelial de *A. flavus* e *A. niger* foi realizada no Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia da Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT, Campus Sinop.

Os óleos essenciais de *S. aromaticum* e *M. alternifolia* foram obtidos em farmácia de manipulação no município de Sinop-MT. As espécies estavam identificadas nos rótulos de ambos os frascos pelo laboratório produtor, contendo número de lote, data de fabricação e de validade.

O material biológico foi coletado e colocado em frasco estéril com solução fisiológica e, cultivado em placa de Petri contendo Batata-Dextrose-Ágar (BDA) acrescido de cloranfenicol (1%), esterilizados em autoclave a 120°C por um período de 15 minutos. As placas foram incubadas em estufa BOD a 28±2°C e escuro e, monitoradas diariamente até o crescimento das colônias.

Os isolados após serem identificados como *A. flavus* e *A. niger* foram transferidos para placas de Petri contendo BDA acrescido de cloranfenicol (1%). Foram utilizados 5 repetições em cada tratamento; contendo alíquotas de: 0,5; 5; 10 e 15µL do óleo essencial de *S. aromaticum* e de 5; 10 e 15µL do óleo essencial de *M. alternifolia*, distribuídas sobre a superfície do meio com alça de Drigaslsky. No tratamento controle foram utilizadas placas contendo somente BDA. Após 2 horas da distribuição dos óleos sobre as placas de BDA, um disco (8mm de diâmetro) de micélio dos isolados, com 10 dias de idade em BDA, foi repicado para o centro das placas, que foram vedadas e incubadas a 28±2°C/escuro.

A avaliação foi realizada através da medição diária do diâmetro das colônias (em cm), e perdurou até que as colônias do tratamento testemunha alcançassem toda a superfície do meio de cultura.

Resultados e discussão

O óleo essencial de cravo-da-índia apresentou resultado positivo em relação ao crescimento micelial de *A. flavus*, pois inibiu o crescimento em todas as alíquotas, de forma decrescente, sendo que as alíquotas de 10 e 15µL proporcionaram 95 e 100% de inibição. O óleo essencial nas alíquotas de 0,5 e 5µL reduziram o crescimento micelial em relação ao

controle em 12 e 43% respectivamente (Figura 1).

No trabalho realizado por Santos et al. (2007), os autores relataram que o óleo essencial de *S. aromaticum* reduziu o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* e *Rhizoctonia solani*. Os autores utilizaram concentrações de óleo 100, 200, 500, 1000 e 2000mg/Kg; mostrando inibição em todas as concentrações, sendo que a partir de 500mg/Kg houve inibição total dos fungos.

Quando utilizado o óleo essencial de melaleuca houve redução do crescimento micelial de *A. flavus* em todas as concentrações, porém a concentração de maior eficiência correspondeu a de 15µL que inibiu em 8% (Figura 1).

Costa et al. (2010), analisaram cepas de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. dubliniensis* de isolados da cavidade bucal de gestantes HIV positivas e verificaram que todas as cepas analisadas foram suscetíveis ao óleo essencial de *M. alternifolia* nas concentrações de 70% e 50%, respectivamente, nos volumes de 20µL e 50µL.

Verificou-se que o óleo essencial de cravo-da-índia inibiu o crescimento de *A. flavus* em 14 e 27% nas alíquotas de 0,5 e 5µL, para as demais alíquotas houve 100% de inibição, o que demonstra que o poder do óleo na inibição é potencializado conforme o aumento das concentrações (Figura 2). Óleo de melaleuca apresentou baixa eficiência no controle de crescimento micelial do *A. niger*, pois houve inibição de 1, 3 e 14% do crescimento, quando submetido às alíquotas de 5, 10 e 15µL, respectivamente (Figura 2).

Caballero, Villacorta e Pretell (2011) testaram o óleo essencial de cravo-da-índia e canela (*Cinnamomum zeylanicum*) nas concentrações de 0,05, 0,10 e 0,20% para verificar a atividade antifúngica em *A. flavus* e concluíram que o óleo de *S. aromaticum* produzido a 0,20% tem maior

ação fungistática para este fungo. Vasquez et al. (2000), concluíram em seu estudo que *M. alternifolia* inibe o

crescimento de espécies de *Candida*; no entanto não houve inibição para espécies de *A. fumigatus* e *A. nidulans*.

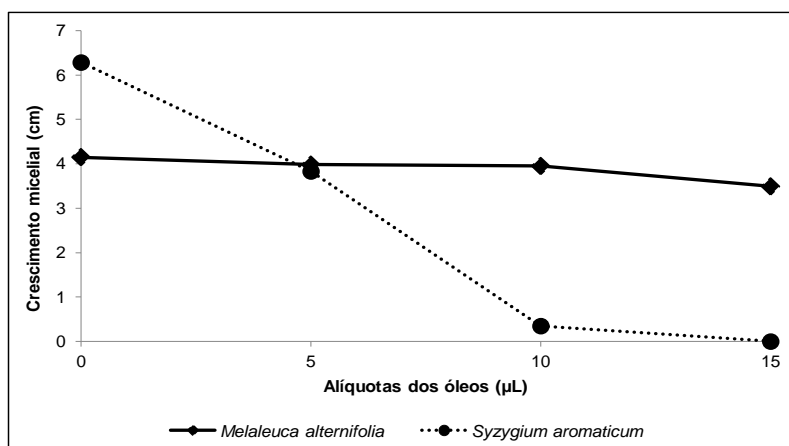


Figura 1. Crescimento micelial de *Aspergillus flavus* submetido a diferentes alíquotas dos óleos de *Melaleuca alternifolia* (melaleuca) e *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia).

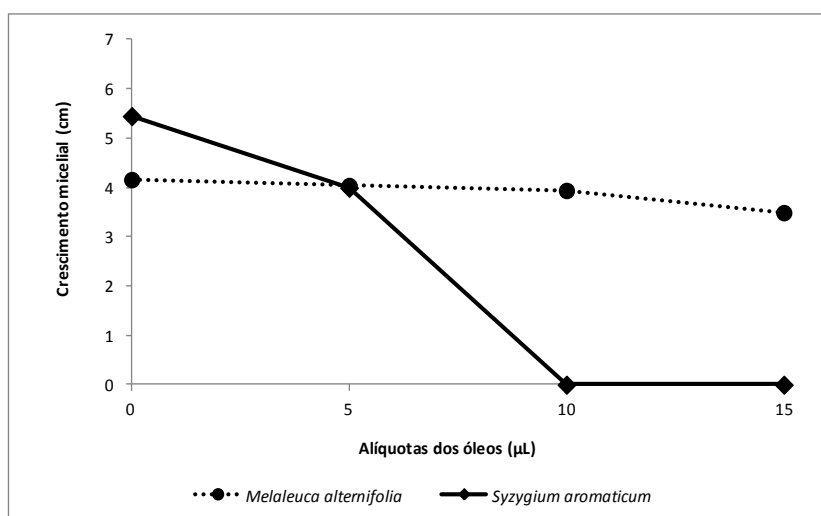


Figura 2. Crescimento micelial de *Aspergillus niger* submetido a diferentes alíquotas dos óleos de *Melaleuca alternifolia* (melaleuca) e *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia).

Conclusões

O óleo essencial de cravo-da-índia inibiu o crescimento micelial de *A. flavus* e *A. niger*, enquanto que o óleo essencial de melaleuca não apresentou resultados satisfatórios para inibir o crescimento micelial destes fungos.

Agradecimentos

Ao CNPq/PIBIC pela concessão de bolsa de Iniciação Científica ao segundo autor para execução deste trabalho.

Referências

CABALLERO, C.A; VILLACORTA, L.M.; VÁSQUEZ, C.P. Efecto del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y su combinación sobre La acción antifúngica en *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz (*Zea mays* L.), variedad morado. **Rev. Oficial de la Universidad Privada Antenor Orrego**, v. 22(1): 123-132, enero/junio 2011.

- CAVALCANTI, Y.W.; ALMEIDA, L.F.D. Atividade Antifúngica de Três Óleos Essenciais Sobre Cepas de *Candida*. **Rev. Odontol. Bras. Central**, v. 20, n. 52, p.68-73, 2011.
- COSTA, A. C. B. P.; TEODORRO, G. R.; FERREIRA, T. M.; SILVA, F. S. MARIA, A. KHOURI, S. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* sobre leveduras isoladas de candidíase bucal de gestantes HIV positivas. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 69, n. 3, p. 403-407, 2010.
- DEUS, R.J.A.; ALVES, C.N.; ARRUDA, M.S.P. Avaliação do efeito antifúngico do óleo resina e do óleo essencial de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne). **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.13, n.1, p.1-7, 2011.
- FABRICANT, D.S.; FARNSWORTH, N.R. The Value of Plants Used in Traditional Medicine for Drug Discovery. **Environmental Health Perspectives**, v. 109, n. 1, p. 69-75, 2001.
- FARNSWORTH, N.R. Biological and phytochemical screening of plants. **Journal Pharmaceutical Science**, v.55, n.3, p.225-76, 1996.
- HAMMER, K. A.; CARSON, C.F.; RILEY, T.V. Antifungal effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 53, n. 6, p. 1081-1085, 2004.
- KOSHI, G.; CHERIAN, K.M. *Aspergillus terreus*, an uncommon fungus causing aortic root abscess and pseudoaneurysm. **Indian Heart Journal**, v.47, p.265-7, 1995.
- PAOLI, S.; GIANI, T. S.; PRESTA, G. A.; PEREIRA, M. O.; FONSECA, A. S.; BRANDÃO-NETO, J.; MEDEIROS, A. C.; SANTOS-FILHO, S. O. BERNARDO-FILHO, M. Effects of Clove (*Caryophyllus aromaticus* L.) on the Labeling of Blood Constituents with Technetium-99m and on the Morphology of Red Blood Cells. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v.50, Special Number, p.175-182, Sept. 2007.
- SANTOS, L.G.M.; CARDOSO, M.G.; LIMA, R.K.; SOUZA, P.E.; GUIMARÃES, L.G.L.; ANDRADE, M.A. Avaliação do potencial fungitóxico do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) MERR & PERRY (CRAVO-DA-ÍNDIA). **Tecno-lógica**, Santa Cruz do Sul, v. 11, n. 1, p. 11-14, jan./dez. 2007.
- TOSTI, A.; PIRRACCINI, B. M.; LORENZI, S. Onychomycosis caused by nondermatophytic molds: Clinical features and response to treatment of 59 cases. **J. Am. Acad. Dermatol.** Febr. v.42, p. 217-224, 2000.
- VASQUEZ, J. A.; ARGANOZA, M. T.; BOIKOV, D.; VAISHAMPAYAN, J. K.; AKINS, R. A. *In vitro* susceptibilities of *Candida* and *Aspergillus* species to *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. **Rev. Iberoam. Micología**, v. 17, n. p.60-63, 2000.