

Artigo Original

AÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA IN VITRO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE COPAIFERA OFFICINALIS, EUGENIA CARYOPHYLATA, MELALEUCA ALTERNIFOLIA, ROSMARINUS OFFICINALIS E THYMUS VULGARIS ANTE OS AGENTES CAUSAIS DE ONICOMICOSE

(ACTION OF THE IN VITRO ANTIFUNGAL ACTIVITY OF COPAIFERA OFFICINALIS, EUGENIA CARYOPHYLATA, MELALEUCA ALTERNIFOLIA, ROSMARINUS OFFICINALIS AND THYMUS VULGARIS ESSENTIAL OILS ON CAUSATIVE AGENTS OF ONYCHOMYCOSIS)

Autores: Juliane Viegas de Oliveira¹, Gyzelle Pereira Vilhena do Nascimento²

¹Farmacêutica do Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos – UNICEPLAC

²Prof.^a Dr.^a do Curso de Farmácia e Estética do Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos – UNICEPLAC. E-mail: gyzashaday@gmail.com

Informações do artigo

Palavras Chave:

Atividade antifúngica,
Micoses ungueais,
Óleos essenciais.

Resumo

A onicomicose é definida como uma doença fúngica caracterizada pelo processo infeccioso da região é ungueal e, é responsável por desencadear uma má qualidade de vida aos pacientes e apesar de serem consideradas micoses superficiais, são difíceis de diagnosticar e tratar, com isso, tem impulsionado a realização de pesquisas na tentativa de obter outras opções terapêuticas além dos medicamentos sintéticos disponíveis na área da saúde. Diante do exposto, o presente estudo teve por finalidade avaliar a ação in vitro dos óleos essenciais de *Copaifera officinalis*, *Eugenia caryophyllata*, *Melaleuca alternifolia*, *Rosmarinus officinalis* e *Thymus vulgaris* frente a fungos causadores de onicomicose. Para a pesquisa da atividade antifúngica in vitro dos óleos essenciais selecionados foi utilizado o método teste de placa de ágar com orifício frente às cepas de *Candida albicans* (ATCC 10231), *Microsporum canis* (ATCC 14055) e *Trichophyton rubrum* (ATCC 28189), nas proporções de 100%, 25% e 5% sendo a leitura das placas e interpretação dos resultados avaliados a partir da observação do halo de inibição, considerando a área sem crescimento detectável a olho nu. Observou-se que os óleos essenciais de *Eugenia caryophyllata*, *Melaleuca alternifolia*, *Rosmarinus*

²Autor correspondente: Professora Doutora do Curso de Farmácia e Estética do Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos – UNICEPLAC. E-mail: gyzashaday@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0324-5543>

DOI: <https://doi.org/10.36271/iajp.v1i2.8> - Artigo recebido em: 08 de setembro de 2019 ; aceito em 20 de outubro de 2019 ; publicado em 20 de novembro de 2019. Revista Ibero-Americana de Podologia, Vol.1, N.2, novembro 2019. Disponível online a partir de 30 de novembro de 2019, ISSN 2674-8215. <http://journal.iajp.com.br> - Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>. Os autores declaram não haver conflito de interesse. Autores apresentaram aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Anhembi Morumbi.

officinalis e *Thymus vulgaris* apresentaram atividade antifúngica com formação de halos sobre as espécies fúngicas leveduras e dermatófitos, sendo que o óleo de *Copaifera officinalis*, apresentou apenas uma fraca atividade em relação as espécies fúngicas testadas. Portanto, conclui-se que os óleos essenciais analisados apresentaram atividade antifúngica, abrindo a perspectiva de novos estudos para caracterização de seus princípios antimicrobianos e alternativas ditas naturais para tratamento dessa podopatia.

Article ID

Keywords:

Antifungal activity,
Nail mycoses,
Essential oils.

Abstract

Onychomycosis is defined as a fungal disease characterized by the infectious process of the region ungueal and is responsible for triggering a poor quality of life for patients and although considered superficial mycoses, are difficult to diagnose and treat, thus has driven the conducting research in an attempt to obtain other therapeutic options in addition to synthetic drugs available in healthcare. Given the above, the present study aimed to evaluate the *in vitro* action of the essential oils of *Copaifera officinalis*, *Eugenia caryophyllata*, *Melaleuca alternifolia*, *Rosmarinus officinalis* and *Thymus vulgaris* against fungi that cause onychomycosis. The *in vitro* antifungal activity of the selected essential oils was investigated using the hole agar plate test method against *Candida albicans* (ATCC 10231), *Microsporum canis* (ATCC 14055) and *Trichophyton rubrum* (ATCC 28189) strains 100%, 25% and 5% and the reading of the plates and interpretation of the results evaluated from the observation of the inhibition halo, considering the area without growth detectable to the naked eye. *Eugenia caryophyllata*, *Melaleuca alternifolia*, *Rosmarinus officinalis* and *Thymus vulgaris* essential oils showed antifungal activity with halo formation on the yeast and dermatophytes fungal species, and *Copaifera officinalis* oil showed only a weak activity in relation to fungal species tested. Therefore, it is concluded that the analyzed essential oils presented antifungal activity, opening the perspective of further studies to characterize their antimicrobial principles and natural alternatives for treating this disease.

Introdução

Estima-se que cerca de aproximadamente 40% da população mundial é acometida por infecções por dermatófitos e que representa 30% de todas as infecções micóticas cutâneas sendo as mais comuns que acometem a pele e as mucosas. As micoses mais frequentes das unhas são as onicomicoses, representando de 18 a 40% de todas as onicopatias [1]. A contaminação de indivíduos adultos com diagnóstico positivo para a onicomicose é representado na porcentagem de 10% a 20% nos adultos com prevalência crescente em todo o mundo [2]. Observa-se este fato decorrente

ao aumento na incidência de patógenos oportunistas, ao qual se destacam as leveduras que são responsáveis por aproximadamente 75% dos casos de onicomicoses na Líbia, 59% em Roma e 49% no Rio de Janeiro [3]. Contudo, estudos relatam que em determinados estudos os fungos dermatófitos são os principais causadores de onicomicose e podem representar até 70% dos casos [4].

A onicomicose é uma infecção fúngica que desencadeia uma má qualidade de vida aos pacientes, influenciando na sua autoestima, prejudicando a capacidade funcional, interferindo nas atividades diárias do paciente. Esta, por sua vez, poderá acarretar outras

doenças, especialmente no idoso, como é o caso dos portadores de diabetes mellitus, em que o paciente é submetido a uma amputação do membro [1]. É importante lembrar que a onicomiose é uma infecção crônica na qual as unhas tornam-se grossas, descoloridas, elevadas, friáveis e deformadas [5]. Apesar de serem consideradas micoses superficiais, as onicomioses são difíceis de diagnosticar e tratar, aliada às dificuldades, à administração, toxicidades e alto custo dos antifúngicos, com isso, tem impulsionado à realização de pesquisas na tentativa de obter melhor desempenho e outras opções terapêuticas [6].

Nesse sentido, as plantas medicinais têm se tornando uma fonte rica para obtenção de moléculas, e tem-se verificado um grande avanço científico envolvendo estudos químicos para isolamento de substâncias com propriedades terapêuticas [7]. Dentre estes compostos se destacam os constituintes químicos existentes nos óleos essenciais das plantas, pois pertencem ao maior e 14 mais diversificado grupo dentro dos produtos naturais e por apresentarem uma grande importância terapêutica e econômica [8]. Logo, o desenvolvimento de fármacos que visam um tratamento mais rápido para levar à cura é um dos objetivos de estudar plantas que venham a combater tais patógenos. E, segundo publicado no Jornal Correio Brasiliense (2010) [9], a essa podopatia é a micose mais complicada de ser solucionada e o tratamento indicado na atualidade é de aplicação tópica em casos mais brandos e em casos mais graves o tratamento pode se proceder com a administração de agentes antifúngicos orais com atividade sistêmica comprovada contra os dermatófitos podendo ser citado entre eles a griseofulvina, o itraconazol, o fluconazol e terbinafina [5]. A pesquisa tornou-se relevante pelo fato de procurar alternativas farmacoterapias no tratamento da onicomiose com menores custos, diminuído grau de toxicidade em doses terapêuticas, bem como menor manifestação de reações adversas medicamentosas em um curto espaço de tempo. O presente trabalho teve por finalidade analisar e avaliar a ação *in vitro* do óleo essencial de *Copaifera officinalis*, *Eugenia caryophyllata*, *Melaleuca alternifolia*, *Rosmarinus officinalis* e *Thymus vulgaris* frente a fungos causadores de onicomiose, onde o profissional farmacêutico toma para si a responsabilidade de promover o processo de atenção farmacêutica com o uso racional desses óleos essenciais e somando-se a isso o processo de promoção da saúde.

Material e Método

Para a pesquisa da atividade antifúngica *in vitro* dos óleos essenciais selecionados ocorreu através de triagem das amostras obtidas de fornecedores de indústrias cosméticas baseada em histórico de produção e utilização dos mesmos. As cepas selecionadas foram: *Candida albicans* (ATCC 10231), *Microsporum canis* (ATCC 14055) e *Trichophyton rubrum* (ATCC 28189). Essas foram obtidas do Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos – UNICEPLAC. A escolha das cepas foi baseada nas análises microbiológicas que produtos cosméticos necessitam para cumprir requisitos de controle de qualidade estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). O meio de cultura utilizado foi Agar Sabouraud dextrose. A metodologia utilizada foi o teste de placa de Agar com orifício onde se seguem as etapas do NCCLS, 2002 [10], com modificações. A primeira, se lacrou o orifício com ágar em questão para que a amostra aplicada posteriormente não fluísse entre o meio e a placa de Petri sem, no entanto, difundir pelo meio de cultura. A segunda, as amostras de óleo foram preparadas com adição de polissorbato 80 que teve por finalidade diminuir a tensão superficial no contato do óleo com o meio de cultura com o intuito de permitir difusão pelo ágar. Foi utilizado como controle o medicamento fluconazol. Cada orifício recebeu 50µL do óleo essencial na proporção de 100% (v/v), ou seja, o óleo sem qualquer diluição, e na proporção de 25% (v/v) e 5% (v/v). O halo de inibição foi considerado a área sem crescimento detectável a olho nu. O crescimento de pequenas colônias, detectável apenas com lente de aumento, na margem do halo de inibição do crescimento foi ignorado. Entretanto, no caso de crescimento discreto de colônias dentro de um halo de inibição evidente, o teste foi repetido com uma cultura ou subcultura pura de uma única colônia, isolada da placa de cultura primária. Se pequenas colônias continuassem a crescer no halo de inibição, o halo de inibição livre de colônias foi ser medido. Aferiu-se a margem mais aparente para determinar o diâmetro do halo de inibição.

Resultados

A tabela 1 mostra a determinação da atividade antifúngica dos óleos essenciais avaliados na proporção de 100%, 25%, 5% sobre as cepas fúngicas testadas.

Para a levedura *Candida albicans* a efetividade de inibição é caracterizada pela formação de halos de inibição de crescimento microbiano (Figura 1A, 1B, 1C e 1D), em que se ressalta a efetividade de inibição em todas as proporções do óleo essencial *Eugenia caryophyllata*, sendo que para a proporção de 5% a média do halo de inibição foi de 9,33mm, para 25% 15,33mm e 100% houve inibição total de crescimento. Nos óleos de *Melaleuca alternifolia*,

Rosmarinus officinalis e *Thymus vulgaris* houve efetividade em 100% e 25%. Em que a média do halo na proporção de 25% para *Rosmarinus officinalis* e *Melaleuca alternifolia* foi de 4,6mm e *Thymus vulgaris* 7mm respectivamente, já em 100% houve inibição total de crescimento em todos os óleos citados acima, entretanto no óleo *Copaifera officinalis* não houve efetividade. Para o fluconazol o halo foi de 16mm.

Tabela 1. Halos de inibição dos óleos essenciais ante os fungos testados.

Óleos essenciais Concentração (%)	<i>Candida albicans</i>			<i>Microsporum canis</i>			<i>Trichophyton rubrum</i>		
	5	25	100	5	25	100	5	25	100
<i>Melaleuca alternifolia</i>	-	+	**	-	-	**	+	++	**
<i>Rosmarinus officinalis</i>	-	+	**	-	-	**	**	**	**
<i>Eugenia caryophyllata</i>	++	+++	**	+	**	**	**	**	**
<i>Copaifera officinalis</i>	-	-	-	-	-	**	-	-	**
<i>Thymus vulgaris</i>	-	+	**	+	+	**	**	**	***
Fluconazol (Controle)	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	+++

(-) Não houve inibição, (+) 4-8 mm, (++) 9-13 mm, (+++) 14-17 mm e (**) inibição total do crescimento.

Figura 1.

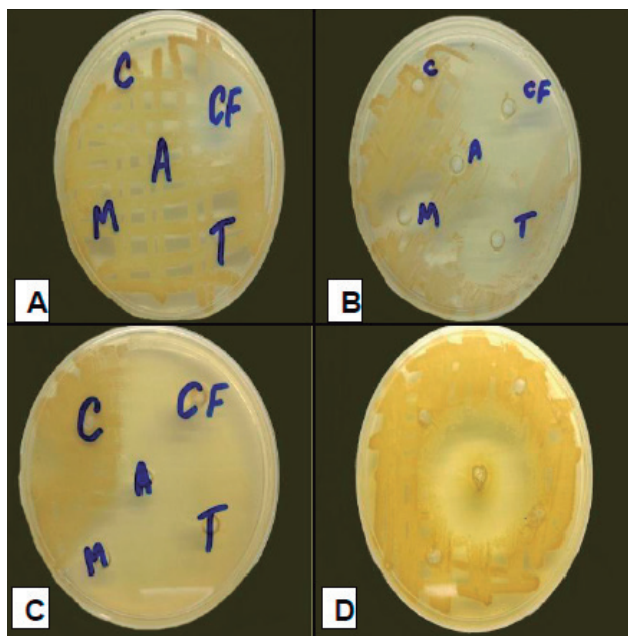


Figura 1. Halo de inibição para levedura *Candida albicans* com os óleos essenciais *Melaleuca alternifolia* (M), *Rosmarinus officinalis* (A), *Eugenia caryophyllata* (CF), *Copaifera offi-*

cialis (C), *Thymus vulgaris* (T). A Fig1A com óleos essenciais na proporção de 5% verificou-se formação de halo de inibição apenas com óleo de cravo folha, já, na Fig1B com óleos na proporção de 25% foi observado halo de inibição com óleos de Cravo folha e Tomilho e de modo semelhante na Fig1C com uso de óleos essenciais na proporção de 100% foi acrescido o halo de inibição do óleo de melaleuca. No controle na Fig1D: com uso de Fluconazol tal inibição também foi observada.

Com relação ao fungo *Microsporum canis* houve inibição total do crescimento na proporção de 100% e 25%, para os óleos essenciais *Melaleuca alternifolia*, *Thymus vulgaris* e *Eugenia caryophyllata*, sendo que em 5% houve inibição com formação de halo somente nos óleos *Thymus vulgaris* e *Eugenia caryophyllata* com média de 7mm e 5,3mm respectivamente. O óleo essencial *Rosmarinus officinalis* e *Copaifera officinalis* teve efetividade somente na proporção de 100% com inibição total de crescimento. O Fluconazol com halo de 17mm. A inibição com formação de halos é demonstrada na figura 2.

Figura 2.

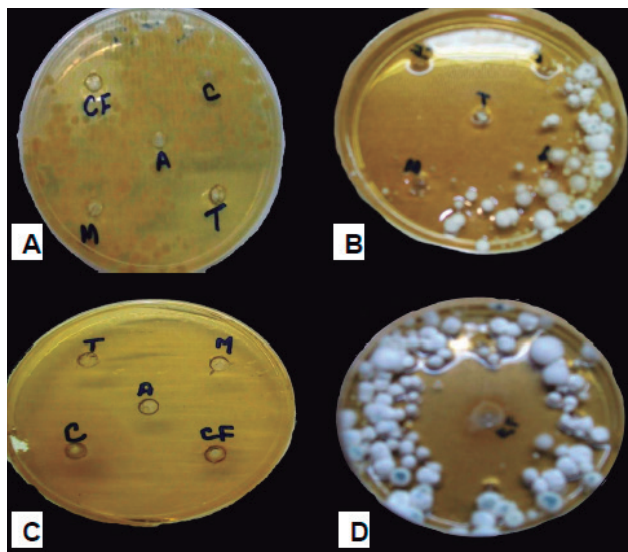


Figura 2. Halo de inibição para dermatófito *Microsporum canis* com os óleos essenciais *Melaleuca alternifolia* (M), *Rosmarinus officinalis* (A), *Eugenia caryophyllata* (CF), *Copaifera officinalis* (C), *Thymus vulgaris* (T). A Fig1A com óleos essenciais na proporção de 5% verificou-se formação de halo de inibição com óleo de cravo folha e tomilho, já, na Fig1B com óleos na proporção de 25% foi observado halo de inibição com todos os óleos exceto o de alecrim, verificou-se inibição com todos os óleos testados na Fig1C. No controle na Fig1D: com uso de Fluconazol tal inibição também foi observada.

Os óleos essenciais *Melaleuca alternifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Eugenia caryophyllata*, *Copaifera officinalis* e *Thymus vulgaris* tiveram inibição total de crescimento na proporção de 100%. Em 25% e 5% houve inibição total de crescimento para os óleos *Rosmarinus officinalis*, *Eugenia caryophyllata* e *Thymus vulgaris*, já o óleo de *Melaleuca alternifolia* apresentou uma média de halo de inibição de 9,33mm na propor-

Discussão / Conclusão

A onicomicose é considerada como a micose superficial mais difícil de tratar e a dificuldade de se estabelecer um diagnóstico clínico, somado ao fato do tratamento exigir o uso de antifúngicos por longos períodos e com potenciais efeitos colaterais, portanto utilizar produtos de origem natural representa uma alternativa de tratamento, com isso os óleos essenciais obtidos a partir de plantas são considerados fontes

ção de 5% e 4,33mm em 25%, entretanto o óleo de *Copaifera officinalis* não houve inibição nas proporções de 25% e 5%. O fluconazol utilizado como controle teve um halo de 14mm. A formação dos halos está demonstrada na figura 3.

Figura 3.

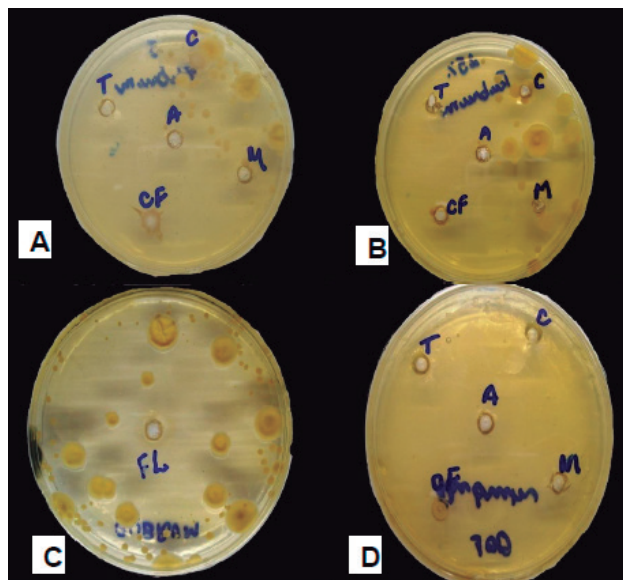


Figura 3. Halo de inibição para dermatófito *Trichophyton rubrum* com os óleos essenciais *Melaleuca alternifolia* (M), *Rosmarinus officinalis* (A), *Eugenia caryophyllata* (CF), *Copaifera officinalis* (C), *Thymus vulgaris* (T). A Fig1A com óleos essenciais na proporção de 5% verificou-se formação de halo de inibição apenas com óleo de *Thymus vulgaris* e *Eugenia caryophyllata* já, na Fig1B com óleos na proporção de 25% foi observado halo de inibição com óleos de Cravo folha e Tomilho e de modo semelhante no controle na Fig1C: com uso de Fluconazol tal inibição também foi observada e, na Fig1D com uso de óleos essenciais na proporção de 100% foi acrescido o halo de inibição do óleo de melaleuca.

promissoras para tratamento de micoses [11]. Os óleos essenciais são substâncias voláteis, que apresentam insolubilidade em água e complexidade química, o que dificulta a padronização de técnicas confiáveis que possam ser reproduzidas e validadas, de modo a alcançar resultados seguros [12]. Com isso para minimizar os erros utilizou-se um agente emulsificante (Tween 80) nas diluições para permitir a difusão da substância ativa em meio aquoso [13].

Os terpenos ou terpenóides possuem várias fun-

ções nos vegetais que os produzem, sendo a atividade antimicrobiana a mais notória [14]. São exemplos de plantas com poder antimicrobiano o tomilho (*Thymus vulgaris*) e orégano (*Origanum vulgare*), ricos em monoterpenos fenólicos como timol e carvacrol, bem como o cravo da índia (*Eugenia caryophyllata*) rico em eugenol [15]. Em nosso estudo foram avaliados a atividade antifúngica de cinco óleos essenciais *Melaleuca alternifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Eugenia caryophyllata*, *Copaifera officinalis* e *Thymus vulgaris* sobre *Candida albicans*, *Microsporum canis* e *Trichophyton rubrum* em proporções de 100%, 25% e 5%. Dos resultados obtidos o óleo essencial *Rosmarinus officinalis* apresentou sensibilidade contra as cepas estudadas, sendo que houve uma maior efetividade de inibição contra a *Candida albicans* nas frações 100% e 25% e *Trichophyton rubrum* em todas as proporções, entretanto, no *Microsporum canis* somente na porção de 100%.

A atividade antifúngica do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. tem sido objeto de estudo de várias pesquisas [16]. Estudos mostraram a susceptibilidade da *Candida albicans* frente ao óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* [12], sendo observado halo de inibição de 10mm [17] ou ainda com halos maiores que 60mm [18]. Óleo essencial de alecrim apresenta terpenos, especialmente α -pineno e canfemo, sendo demonstrada sua ação antimicrobiana verificada frente a linhagens bacterianas e também sobre linhagens de leveduras [19]. Apesar do reconhecimento das propriedades antimicrobianas do óleo essencial sobre bactérias e leveduras, estudos ainda precisam ser conduzidos sobre outras espécies de fungos [20].

Em relação a ação do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* estudos verificaram que esse óleo em concentrações inferiores a 1% apresentam um forte potencial antimicrobiano, o que sugere a ação antifúngica pelo comprometimento das funções e alteração das propriedades da membrana [21], como por exemplo sobre leveduras do gênero *Candida* que com a utilização da técnica de difusão em ágar nas concentrações de 10 a 100%, tais fungos foram suscetíveis nas concentrações de 70 e 50% [22]. Nossos resultados evidenciaram uma susceptibilidade do óleo de *Melaleuca* sobre a *Candida albicans*, *Microsporum canis* e *Trichophyton rubrum* em proporções de 100% 25%, tendo uma maior inibição no fungo *Trichophyton rubrum*. Desta forma, os resultados deste estudo têm correlação com o descrito na literatura. Já os fun-

gos dermatofíticos *Microsporum canis* e *Trichophyton rubrum* são susceptíveis ao óleo de *Melaleuca alternifolia* [23], podendo ter ação fungistática em baixas concentrações (0,1%) [24]. Porém a citotoxicidade do óleo essencial de *M. alternifolia* é relatada principalmente ao componente majoritário do óleo, terpinen-4-ol, podendo estar relacionadas à propriedade dos terpenos de alterar a fluidez de membranas, sendo estabelecido que reações alérgicas, na aplicação tópica podem ocorrer em pacientes predispostos e que seu uso em proporção de 100% e desaconselhável, sendo indicada a diluição, considerando concentrações maiores que 10% como não irritantes [21].

O óleo essencial *Eugenia caryophyllata*, apresentou os melhores resultados em nosso estudo, sendo evidenciada uma susceptibilidade sobre a *Candida albicans*, *Microsporum canis* e *Trichophyton rubrum* em todas as proporções. Esse óleo essencial que mais se destaca em atividade antifúngica e bacteriana [25], sendo encontrado em sua composição fenóis na concentração de 75 a 85%, rico eugenol, derivado que possui atividade antimicrobiana [14] e, com atividade comprovada contra fungos isolados de oncomicoses, como *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Aspergillus niger* [26]. Estudos realizados pelo método de difusão em ágar com o objetivo de analisar o potencial como antifúngico natural do óleo essencial *Eugenia caryophyllata*, observou-se que o crescimento foi completamente inibido em *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* e *Microsporum gypseum* [27], sendo sugerindo seu uso como uma droga antidermatofítica [23]. Dessa forma, os resultados deste estudo corroboram com os achados da literatura. É sabido que o eugenol presente no óleo essencial de *E. caryophyllata*, apresenta baixa alergenicidade em contato com a pele, entretanto, em estudo realizado com mais de 15 mil pacientes para investigar o efeito alérgico de óleos essenciais, 637 pacientes apresentaram alergia, sendo que, estes casos 1,5%, foram de pacientes que apresentaram reação alérgica ao óleo e, essa resposta alérgica pode estar relacionada à alta concentração do ativo [26].

Thymus vulgaris popularmente conhecido como tomilho, é uma das plantas muito utilizadas na medicina popular, seu óleo é considerado responsável pelas atividades atribuídas a essa planta, apresenta ações antisséptica, expectorante, antimicrobiana; carminativa e antiespasmódica, sua atividade biológica está

relacionada com seus principais constituintes, denominados timol e carvacrol, estes possuem atividade microbica contra amplo espectro de microorganismos [28]. Quanto ao óleo essencial de *Thymus vulgaris*, este apresentou halos de inibição contra *Candida albicans*, *Microsporum canis* e *Trichophyton rubrum*, sendo que se verificou maior susceptibilidade contra *Microsporum canis* e *Trichophyton rubrum*. Estudos ao avaliarem os efeitos do óleo essencial de diversas plantas sobre *Candida albicans*, o óleo essencial mais eficiente na inibição foi o de *Thymus vulgaris* [6] também sobre cepas bacterianas como por exemplo, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus spp.*, *Streptococcus mutanse* e *Streptococcus sobrinus* [28]. Diante do exposto os resultados encontrados fortalecem os achados na literatura da ação do óleo essencial *T. vulgaris* contra *Candida*, entretanto, observa-se a necessidade de estudos contra outras espécies de fungos.

Por fim o óleo essencial de *Copaifera officinalis*, que não manifestou efetividade de inibição contra *Candida albicans*. Em relação aos dermatófitos *Microsporum canis* e *Trichophyton rubrum* apresentou uma moderada atividade, visto que se verificou inibição total de crescimento na proporção de 100%, ou seja, o óleo sem qualquer diluição. Estudos ao avaliarem as atividades antimicrobianas dos óleos de copaíba obtidas de várias espécies de *Copaifera*, todos os óleos testados apresentaram boa atividade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas, incluindo a MRSA, entretanto sem atividade contra as bactérias Gram-negativas, apresentaram uma moderada atividade antifúngica contra *Microsporum canis* e *Trichophyton rubrum*, e contra leveduras os óleos de copaíba foram inativos [29]. As observações supracitadas são reforçadas pelos achados nos resultados deste estudo. Existem mais de 20 espécies de *Copaifera* no Brasil, que fornecem óleos que diferem significativamente em composição química, os constituintes principais destes óleos são sesquiterpenos e diterpenos [30]. Apesar de exibir atividade antibacteriana e ter como componente o óleo cariofileno, que tem ação germicida, o óleo de copaíba não demonstrou atividade antifúngica, em estudo com o gênero *Candida* [31]. Entretanto, ação fungistática, por um período de 8 dias, foi encontrada para os microorganismos dos gêneros *Aspergillus* e *Candida*, quando utilizado o óleo essencial de *Copaifera multijuga* [32].

Conforme é descrito na literatura, os óleos essenciais têm mostrado ação efetiva em estudos farmaco-

lógicos e suas aplicações populares se mostram eficazes. Entretanto, há poucos estudos referentes à sua toxicidade, bem como estudos conclusivos em relação aos seus usos. Desta forma, a necessidade de estudos posteriores para investigar o comportamento *in vivo* desses óleos, a fim de que possam ser utilizados como uma alternativa ao tratamento convencional com antifúngicos sintéticos. Além disso, os estudos laboratoriais e clínicos destes óleos são necessários de modo a compreender os seus princípios antimicrobianos. Nesse sentido profissionais da saúde tem o dever de fornecer à sociedade alternativa de tratamento, melhorando a qualidade de vida de cada paciente, a partir de resultados definidos com segurança e eficácia.

A partir dos resultados obtidos foi possível concluir que o potencial antifúngico dos produtos naturais avaliados confirma a atividade sobre o crescimento microbiano de leveduras *Candida albicans* e fungos dermatófitos *Microsporum canis* e *Trichophyton rubrum*, facilmente presentes em onicomicoses. Destaca-se o expressivo resultado apresentado pelo óleo essencial *Eugenia caryophyllata*, bem como os óleos *Melaleuca alternifolia*, *Rosmarinus officinalis*, e *Thymus vulgaris*. Entretanto, o óleo essencial *Copaifera officinalis* não apresentou atividade antifúngica sobre as leveduras do gênero *Candida* e com relação as cepas dermatofíticas não foram observadas formação de halos de inibição evidentes para as concentrações estudadas.

Referências

1. Araújo AJG, Bastos OMP, Souza MAJ, Oliveira JC. Ocorrência de onicomicose em pacientes atendidos em consultórios dermatológicos da cidade do Rio de Janeiro, Brasil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. 2003; Maio / Junho, 78(3) 300.
2. Pierard GE, Arrese JE, Pierard- Franchimont C. **Onychomycosis under the microscope**. Monograph, Beerssen Belgium: Jansen Pharmaceutica, 2003.
3. Souza EAF, Almeida LMM, Guilhermetti E, Mota VA, Rossi RM, Svidzinski TI. Frequência de onicomicoses por leveduras em Maringá, Paraná, Brasil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. 2007; Mar. / Abril, 82(2).
4. Aghamirian MR, Ghiasian SA. Onychomycosis in Iran: epidemiology, causative agents and clinical features. **Jpn J Med Mycol**. 201; 5:23-9.
5. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. **Micro-**

biologia Médica. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006: 727- 730.

6. Giordani R, Regli P, Kaloustian J, Mikail C, Abou L, Portugal H. Antifungal effect of various essential oils against *C.albicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from *Thymys vulgaris*. **Phytot. Res**. 2004; 18:990-995.

7. Foglio MA, Queiroga CL, Souza IMO, Rodrigues RAF. Plantas Medicinais como Fonte de Recursos Terapêuticos: Um Modelo Multidisciplinar. **Construindo a história dos produtos naturais**, 2006.

8. Silva SRS, Deuner AJ, Barbosa LCA, Andrade NJ, Nascimento EA, Pinheiro AJ. Análise de constituintes químicos e da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Rev Bras de Pl Med**. 2003; 6(1):62-70.

9. **Questão de Pele: Atenção para irritações pelo corpo. Podem ser micoses, causadas por fungos que se proliferam no calor e na alta umidade do ar.** Jornal Correio Brasiliense, Brasília – DF, 20 fev, 2010:28.

10. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). **Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras**. Norma M27-A2 do NCCLS. Pensilvânia: NCCLS.2002: 51.

11. Castro RD, Lima EO. Atividade antifúngica dos óleos essenciais de sassafrás (*Ocotea odorifera* Vell.) e alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) sobre o gênero *Candida*. **Rev Bras Pl Med**. 2011; 13(2):203-208.

12. Nascimento PFC, Nascimento AC, Rodrigues CS, Antonioli AA, Santos PO, Basbora Junior AM, Trindade RC. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Rev. Bras. Farmacogn**. 2007; 17:108-113.

13. Almeida LFD, Cavalcanti YM, Viana WP, Lima EO. Screening da Atividade Antifúngica de Óleos Essenciais sobre *Candida albicans*. **Rev Bras Ciênc Saúde**. 2010; 14: 51-56.

14. Burt SA, Reinders RD. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. **Lett Appl Microbiol**. 2003; 36:162-167.

15. Alonso JR. **Tratado de fitomedicina: Bases clínicas y farmacológicas**. Isis: Buenos Aires, 1998.

16. Mangena T, Muyima NY. Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essences oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosmarinus officinalis* selected bacteria and yeast strains. **Letters in**

Applied Microbiology. 1999; 28(1):291-296.

17. Lima IO, Oliveria RAG, Lima EO, Farias NMP, Souza EL. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Rev Bras Farmacogn**. 2006; 16:197- 201.

18. Packer JF, Luz MMS. S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 2007; 17(1):102-107.

19. Angioni A, Barra A, Cereti E, Barile D, Coissin JD, Arlorio M, Dessi S, Coroneio V, Cabras P. Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. **J Agric Food Chem**. 2004; 52:3530-3532.

20. Sartoratto A, Machado ALM, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MCT, Rehder VLG. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Braz J Microbiol**. 2004; 35:275-280.

21. Harmmer KA, Carson CF, Riley TV, Nielsen JB. A review of the toxicity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. **Food Chem Toxicol**. 2006; 44(5):616-625.

22. Costa ACBP, Rodrigues TG, Ferreira TM, Silva FS, Aguida M, Khouri S. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* sobre leveduras isoladas de candidíase bucal de gestantes HIV positivas. **Rev Inst Adolfo Lutz**. 2010; 69(3): 403 – 407.

23. **ITF: Índice Terapêutico Fitoterápico – Ervas Medicinais**. [Editor: Luís Carlos Ávila]. 2. Ed. Petrópolis, RJ: EPUB- Editora de Publicações Biomédicas Ltda, 2013.

24. Benger S, Townsend P, Ashford RL, Lambert P. An *in vitro* study to determine the minimum inhibitory concentration of *Melaleuca alternifolia* against the dermatophyte *Trichophyton rubrum*. **The Foot**. 2004; 14:86-91.

25. Rozwalka LC. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Coltotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência rural, Santa Maria**. 2008; mar. / abr., 58(2): 301-307.

26. Affonso RDS; Renno MN, Slana GB, Franca TCC. Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia. **Rev Virt de Quím**. 2012; 4(2):146-161.

27. Park MJ, Gwak KS, Yang I, Choi WS, Chang

JW, Jeung EB, Choi G. Antifungal activities of the essential oils in *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et Perry and *Leptospermum petersonii* Bailey and their constituents against various dermatophytes. **The Journal of Microbiology**.2007;460-465.

28. Carreto CFP, Navas AFA, Paradella TC, Oliveira LD, Junqueira JC, Jorge AOC. Efeitos do chá de tomilho sobre a aderência in vitro de *Streptococcus mutans* ao esmalte dentário e *Candida albicans* à resina acrílica. **UNESP**.2007; 36:281-286.

29. Santos AOD, Ueda- Nakamura T, Dias Filho BP, Veiga Junior VF, Pinto AC, Nakamura CV. Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. **Mem. Ins. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro. 2008; 103(3):277-281.

30. Veiga Junior VF, Zunino L, Calixto JB, Patitucci ML, Pinto AC. Estudos fitoquímicos e antioedemagenic de óleos de copaíba comerciais disponíveis no Brasil. **Phytother Resoluc o**. 2001; 15:476-480.

31. Valverde RS. **Avalia o da atividade antifúngica dos extratos brutos etanólicos de: *Cucurbita pepo*, *Remirea marítima* Cayaponiatayuya, *Eucalyptos citriodora*, *Cuminum cyminum* e  leo Resina de Copaíba sobre leveduras do G nero Cândida**. 2007. Disserta o (Mestrado em odontologia). Universidade Potiguar, Natal, 2007.

32. Deus RJ, Alves CN, Arruda MSP. Avalia o do efeito antifúngico do óleo resina e do óleo essencial de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne). **Rev. Bras. Plantas Med**. 2011; 13(1): 1-7.