

MICHELLE ROSE DE OLIVEIRA SILVA

**DETECÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE
EXTRATOS DE PLANTAS DO MANGUEZAL DE VILA
VELHA, ITAMARACÁ-PE.**

RECIFE
2004

MICHELLE ROSE DE OLIVEIRA SILVA

DETECÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE
EXTRATOS DE PLANTAS DO MANGUEZAL DE
VILA VELHA, ITAMARACÁ-PE.

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre na área de concentração de Micologia Aplicada.

ORIENTADORA:

Dra. Norma Buarque de Gusmão

CO-ORIENTADORA:

Dra. Márcia Silva do Nascimento

RECIFE
2004

DETECÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATOS DE
PLANTAS DO MANGUEZAL DE VILA VELHA, ITAMARACÁ-PE.

Comissão Julgadora da Dissertação para
obtenção do grau de Mestre

Prof^a. Dr^a. Norma Buarque de Gusmão
Orientadora/Presidente

Prof^a. Dr^a Lourinalda Luíza Dantas da Silva
1^o Examinador

Prof^a. Dr^a Elza Áurea Luna
2^o Examinador

Dissertação defendida e aprovada no dia 20 de fevereiro de 2004.

DEDICATÓRIA

*Aqui estou, para te dar meu carinho
Sentir teu perfume embalando meus sonhos
Teus abraços de amor a me proteger
Teu sorriso, tuas mãos, tua pele, teus olhos
Tudo que me faz crescer.*

*Agradeço a vida
Consentida, refletida
No espelho da alma
Amiga e companheira
Agradeço o amor.*

*Tão suave em teu peito
Tão puro e sem medo
Tão mágico e pleno
Da luz de Jesus
Das bênçãos de Deus!*

Te amo!

(Domínio Público)

*Dedico este poema a minha mãe Carmem
Lúcia de Oliveira, pelas horas de apoio,
pelo amor incondicional e verdadeiro.*

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Jesus Cristo, pois tua luz e bênçãos estiveram presentes em todos os meus dias.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

À minha mãe Carmem Lúcia de Oliveira, pelo apoio irrestrito, companheirismo e amor.

À Profa. Dra. Norma Buarque de Gusmão, amiga e orientadora, pelos valiosos ensinamentos, apoio nas horas difíceis, compreensão e imenso carinho dedicado a mim.

À minha madrinha, Maria Terezinha Nunes Azevedo, por toda consideração a minha família.

À Dra. Lourinalda Silva, pela ajuda prestada em laboratório e na elaboração da dissertação.

À Profa. Dra. Márcia Nascimento, pela co-orientação e ajuda na coleta.

À Profa. Dra. Ângela do Laboratório de Nutrição Animal – UFRPE, pela utilização do moinho, viabilizando esta pesquisa.

Ao ilustríssimo Manoel “Lafepe”, pelas facilidades concedidas e pelos momentos de descontração.

À Fátima Regina e Orlando do Depto. de Antibióticos, pela paciência e ajuda prestada nas horas de desespero.

A todos da Coleção de Cultura do Departamento de Antibióticos, pela forma carinhosa e hospitaleira com que me receberam.

À Luciana Gonçalves de Oliveira, amiga incondicional e companheira nos momentos de alegria e tristeza.

A Bruno Machado Leão e Brígida Thaís Lucena, pela amizade sincera e recíproca.

A Giani Maria Cavalcante e Simone Vasconcelos, pelos momentos inesquecíveis de alegria e de “cachaças”.

À Patrícia Mendes de Souza, amiga de turma, pela grande companhia nos momentos de descontração.

Aos companheiros da turma de Mestrado em Biologia de Fungos, pelos ensinamentos valiosos.

A todos que tenham contribuído de alguma forma para minha formação e desenvolvimento desta pesquisa, e que por ventura tenha esquecido de mencionar acima, os meus sinceros agradecimentos.

Deus coloca anjos em nossos caminhos para que a cada dia possamos sentir a tua presença nos iluminando.

RESUMO

O uso de extratos de plantas com propriedades antimicrobianas tem grande significado no tratamento terapêutico. No Brasil, somente 5% das espécies de plantas foram estudadas fitoquimicamente e uma porcentagem ainda menor foi avaliada sob aspectos biológicos. Este trabalho avaliou a atividade antifúngica das folhas e cascas de *Avicennia* sp., *Conocarpus erectus*, *Laguncularia racemosa* e *Rhizophora mangle* coletadas no estuário do rio Paripe (Vila Velha, Itamaracá, PE), frente a dermatófitos e leveduras. Após a secagem, o material coletado foi reduzido a pó e submetido a extrações sucessivas com metanol. A abordagem fitoquímica foi realizada para detectar os principais grupos químicos presentes nessas plantas. Para determinação da atividade antifúngica dos extratos foram realizados o método de difusão em disco e a determinação da concentração mínima inibitória pelo método de microdiluição e macrodiluição. Os microrganismos utilizados foram às leveduras *Candida albicans*, *C. parakrusei*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *Trichosporon beigeli* e *T. pullulans* e os dermatófitos *Epidermophyton floccosum*, *Microsporium gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* e *T. rubrum*. A abordagem fitoquímica revelou a presença de flavonóides, terpenos e esteróides e taninos nessas plantas. Os taninos representam o principal grupo existente nas plantas testadas e a casca da amostra 1 de *Avicennia* apresentou terpenos e esteróides com grande intensidade. No teste de atividade pelo método de difusão em disco foram ativos, para as leveduras, os extratos da casca da amostra 1 de *Avicennia*, da casca de *C. erectus*, da folha de *L. racemosa* e da folha e casca de *R. mangle* e, os dermatófitos, foram sensíveis a todos os extratos, com exceção da amostra 2 de *Avicennia*. Para o teste de difusão em disco *C. albicans* foi à espécie mais resistente enquanto *T. pullulans* foi mais sensível, seguido por *C. parakrusei*, *C. glabrata* e *C. parapsilosis* e para os dermatófitos *E. floccosum* foi o microrganismo mais sensível, seguido por *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* e *M. gypseum*. Na determinação da concentração mínima inibitória das espécies de leveduras *T. beigeli*, *T. pullulans*, *C. parakrusei* e *C. parapsilosis* foram as mais sensíveis, com CMI de 15,625 mg/mL. Para os fungos dermatofíticos, *E. floccosum* foi o mais sensível, apresentando CMI de 15,625 mg/mL, enquanto *M. gypseum* foi o mais resistente com CMI de 1000 mg/mL. O presente trabalho indica que as espécies estudadas, em especial a casca da amostra 1 de *Avicennia*, possuem relevante potencial antifúngico e estudos posteriores devem ser conduzidos para isolar os compostos ativos.

Palavra-chave: Manguezal, Atividade Antifúngica, Leveduras, Dermatófitos.

ABSTRACT

The use of plants extracts with antimicrobial properties have great significance in the therapeutic treatment. In Brazil, only 5% species by plants were studied their phytochemistry and one percent these plants were evaluated about biologicals aspects. This work evaluated antifungal activity of leaves and barks from *Avicennia* sp., *Conocarpus erectus*, *Laguncularia racemosa* and *Rhizophora mangle* collected in the Paripe river estuary (Vila Velha, Itamaracá-PE), against dermatophytes and yeasts. After dryer, the plants were reduced powder and submitted many extractions with MeOH. Screening phytochemical was carried out in order to identify the chemicals groups presents these plants. The antifungal activity test of extracts were performed by disk diffusion and minimum inhibition concentration (MIC) methods. The microorganisms used: yeasts (*Candida albicans*, *C. parakrusei*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *Trichosporon beigellii* and *T. pullulans*) and dermatophytes (*Epidermophyton floccosum*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* and *T. rubrum*). Screening phytochemical showed the presence of flavonoids, terpenes, steroids and tannins these plants. Tannis represented the group principal existent and bark of sample 1 from *Avicennia* showed terpenes and steroids with high intensity. For yeasts, in disk diffusion test, was active bark extracts of sample 1 from *Avicennia*, *C. erectus* and *R. mangle*, the leaves from *L. racemosa*. The dermatophytes were sensible all extracts, except sample 2 from *Avicennia*. The disk diffusion test *C. albicans* was specie more resistance than *T. pullulans* was more sensible, followed by *C. parakrusei*, *C. glabrata* and *C. parapsilosis*. For dermatophytes, *E. floccosum* was more sensible, followed by *T. rubrum*, *T. menta grophytes* and *M. gypseum*. Minimum inhibition concentration determination of yeasts species *T. beigellii*, *T. pullulans*, *C. parakrusei* and *C. parapsilosis* were more susceptible, with MIC 15,625 mg/mL. The dermatophyte fungi, *E. floccosum* was more susceptible, showed MIC 15,625 mg/mL, while *M. gypseum* was more resistance with MIC 1000 mg/mL. This work show that the species studied, in special, bark of sample 1 from *Avicennia*, has great potential antifungal and study posteriors must be conducted to isolate the compounds actives.

Keywords: Mangrove, Antifungal Activity, Yeasts, Dermatophytes.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Atividade antifúngica do extrato da casca de *Avicennia* amostra 1 frente às leveduras..... 31
- Figura 2. Atividade antifúngica do extrato da casca de *Conocarpus erectus* frente às leveduras 31
- Figura 3. Atividade antifúngica do extrato da casca de *Avicennia* amostra 1 frente aos dermatófitos
..... 33
- Figura 4. Atividade antifúngica do extrato da folha de *Conocarpus erectus* frente aos dermatófitos .. 33
- Figura 5. Atividade antifúngica do extrato da casca de *Conocarpus erectus* frente aos dermatófitos . 34
- Figura 6. Atividade antifúngica do extrato da folha de *Laguncularia racemosa* frente aos dermatófitos
..... 34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição das áreas de manguezais no litoral de Pernambuco	5
Tabela 2. Utilização das plantas de manguezais na medicina popular	9
Tabela 3. Peso seco e volume do solvente utilizado na extração das plantas do manguezal usadas para obtenção dos extratos	22
Tabela 4. Fungos utilizados para o teste de atividade e seus respectivos números de registros na Micoteca.....	23
Tabela 5. Resultado da abordagem fitoquímica para as plantas do manguezal.....	28
Tabela 6. Rendimento do extrato bruto das plantas do manguezal	29
Tabela 7. Resultados do teste de difusão em disco dos extratos brutos metanólicos (1 g/mL) frente às leveduras.....	30
Tabela 8. Resultados do teste de difusão em disco dos extratos brutos metanólicos (1 g/mL) frente aos dermatófitos	32
Tabela 9. Determinação da concentração mínima inibitória dos extratos metanólicos das plantas do manguezal frente às leveduras.....	35
Tabela 10. Determinação da concentração mínima inibitória dos extratos metanólicos das plantas do manguezal frente aos dermatófitos	37

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA

AGRADECIMENTOS

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. O Ecossistema Manguezal	4
2.2. Antifúngicos	10
2.3. Plantas Utilizadas na Medicina Popular	16
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
3.1. Área de Estudo.....	19
3.2. Coleta.....	19
3.3. Abordagem Fitoquímica	20
3.3.1. Alcalóides	20
3.3.2. Flavonóides	20
3.3.3. Saponinas.....	20
3.3.4. Taninos	21
3.3.5. Terpenos e Esteróides.....	21
3.4. Preparação dos Extratos Brutos	22
3.5. Atividade Antifúngica dos Extratos Brutos	23
3.5.1. Microrganismos Testes	23

3.5.2. Antifúngicos	24
3.5.3. Teste de Atividade Antifúngica	24
3.5.3.1. Método de Difusão em Disco.....	24
3.6. Determinação da Concentração Mínima Inibitória	25
3.6.1. Método de Microdiluição	25
3.6.2. Método de Macrodiluição	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1. Abordagem Fitoquímica	27
4.2. Rendimento dos Extratos Brutos	29
4.3. Teste de Atividade Antifúngica	30
4.3.1. Teste de Difusão em Disco.....	30
4.4. Determinação da Concentração Mínima Inibitória	35
5. CONCLUSÕES	40
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
ANEXO A	

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas três décadas a indústria farmacêutica produziu um grande número de novos antibióticos, mas a frequência e a resistência a estes fármacos por bactérias e fungos têm aumentado (COHEN, 1992).

Tal fato é motivo de preocupação devido ao número de pacientes em hospitais que apresentam sua imunidade comprometida, conseqüentemente novas infecções ocorrem no ambiente hospitalar resultando numa alta mortalidade (NASCIMENTO *et al.*, 2000).

Sabe-se que *Candida albicans* é o principal patógeno oportunista em pessoas com imunidade comprometida, como pacientes com HIV ou câncer. A aspergilose pulmonar e a pneumonia causada por *Pneumocystis carinii* estão liderando causas de morte em receptores de transplante de medula óssea e em pacientes infectados com o vírus HIV (OKADA, 1998).

Isolados de *C. krusei* e *C. glabrata* são reconhecidos por terem susceptibilidade reduzida a fluconazol e a resistência a essa droga também foi documentada em espécies de *C. albicans* isoladas de pacientes com AIDS submetidos à terapia com azoles (LAW *et al.*, 1996).

Hoje, importantes grupos do mundo inteiro mobilizam-se na identificação de novos metabólitos, promovendo modificações químicas em suas estruturas através de processos semi-sintéticos e sintéticos. Estão sendo procurados novos compostos que possam ser utilizados clinicamente em altas dosagens por períodos prolongados, apresentem baixa toxicidade, sejam absorvidos por via oral e ainda com amplo espectro de aplicação (HARVEY, 1993).

Por um longo período de tempo, as plantas têm sido uma valiosa fonte de produtos naturais para manutenção da saúde humana, especialmente na última década, onde os estudos realizados foram direcionados para a terapia natural (NASCIMENTO *et al.*, 2000).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), as plantas medicinais serão as melhores fontes para se obter uma variedade de substâncias (SANTOS *et al.*, 1995).

Segundo Cechinel Filho & Yunes (1998), a maioria das espécies de plantas brasileiras permanece sem nenhum estudo químico ou biológico. Existem cerca de 250 - 500 mil espécies de plantas, na flora nacional, e somente cerca de 5% delas foram estudadas fitoquimicamente e uma porcentagem menor avaliada sob aspectos biológicos, o que permite deduzir que muitas substâncias com atividade medicinal podem ainda ser isoladas, o que representa um potencial econômico valioso. Dentre as plantas estudadas foi demonstrada a atividade inibidora de substâncias isoladas de *Vatairea macrocarpa* sobre espécies de *Klebsiella* e *Staphylococcus aureus*, bem como de extratos de *Eucaliptus* spp. contra fungos do solo e posteriormente, a atividade antifúngica de óleo essencial obtido a partir de folhas de *Croton triangularis* sobre *C. albicans* (MATOS *et al.*, 1988, BRUNA *et al.*, 1989; LEMOS *et al.*, 1992).

A atividade antimicrobiana e citotóxica de extratos de 30 espécies de plantas frente a cinco espécies de bactérias e duas espécies de fungos foram analisadas (NASCIMENTO *et al.*, 1990); os extratos etanólicos de 70% das plantas foram tóxicos para células e apenas *Combretum duarteanum* apresentou atividade antimicrobiana.

A crescente incidência de infecções por fungos oportunistas, a resistência destes aos *azoles* e as reações adversas produzidas pelos antifúngicos de uso

clínico, principalmente os *polienos*, tem atraído a atenção dos pesquisadores para o desenvolvimento de novos e potentes antifúngicos, bem como métodos para testes de susceptibilidade *in vitro*. Além disso, novos antifúngicos tendo mecanismos específicos de ação são continuamente requisitados para combater as infecções.

O problema da resistência microbiana está crescendo e, portanto, medidas devem ser tomadas para reduzi-lo, como controlar o uso de antibióticos, desenvolver pesquisas para melhor entender o mecanismo genético da resistência e continuar a busca por novos fármacos, seja de origem natural ou sintética (NASCIMENTO *et al.*, 2000).

É com base na constante busca por novas substâncias e no crescente surgimento de microrganismos resistentes aos fármacos atualmente usados na terapêutica que o alvo de nosso estudo foi avaliar a atividade antifúngica de cascas e folhas de *Avicennia* sp., *Conocarpus erectus*, *Laguncularia racemosa* e *Rhizophora mangle* frente a dermatófitos e leveduras isoladas de pacientes imunodeprimidos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O Ecossistema Manguezal

A palavra **mangue** é usada para designar um grupo de espécies vegetais arbóreas ou arbustivas pertencentes às famílias co-relacionadas que compartilham características fisiológicas e adaptações especiais, permitindo longos períodos de exposição em água, alta salinidade, baixo teor de oxigênio e substratos inconsolidados (SCHAEFFER-NOVELLI *et al.*, 2000).

O termo **manguezal** é empregado para descrever ecossistemas costeiros, de transição entre o ambiente terrestre e marinho, característico de regiões tropicais e subtropicais onde populações de plantas interagem entre si, com animais e microrganismos ocupando um determinado ambiente físico (BARROS, *et al.*, 2000; SCHAEFFER-NOVELLI *et al.*, 2000).

As plantas de mangue são conhecidas desde os tempos antigos, nos estudos realizados Nearchus (325 a. C) e Theophrastus (305 d. C) em que relatam a ocorrência de *Rhizophora* em manguezais no mar Vermelho e no Golfo Pérsico (MACNAE, 1968; CHAPMAN, 1986; TOMLINSON, 1986).

O Brasil abriga 10% de todos os manguezais do planeta. Possui 7.408 Km de litoral, sendo 6.786 Km ocupados por florestas de mangue, cobrindo aproximadamente 25.000 Km². Estende-se desde o Cabo Orange, ao Norte, até o estado de Santa Catarina, ao Sul. No entanto, a vegetação apresenta uma maior concentração ao longo da costa do Amapá, Pará e Maranhão, constituindo 85% do manguezal do Brasil (HETZ, 1991).

O estado de Pernambuco, devido a sua posição geográfica, apresenta uma das menores faixas litorâneas da costa brasileira. Uma área de 23.973 hectares é ocupada por mangue, e a maioria encontra-se localizado nos municípios de Goiana, Igarassu, Itamaracá e Itapissuma; nas margens do Canal de Santa Cruz (7° 40' S e 7° 50' S de Latitude; 34° 50' e 34° 54' de Longitude) (BARROS *et al.*, 2000) (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição das áreas de manguezais no litoral de Pernambuco.

Denominação	Área (ha)	Rios principais	Municípios
Estuário dos rios Goiana e Megaó	4.776	Goiana-Megaó	Goiana
Estuário do rio Itapessoca	3.998	Itapessoca	Goiana
Estuário Jaguaribe	212	Jaguaribe	Itamaracá
Complexo Estuarino do Canal de Santa Cruz	5.292	Igarassu-Botafogo-Maniquara-Arataca	Itamaracá-Itapissuma-Igarassu-Goiana
Estuário do rio Timbó	1.397	Timbó-Arroio Desterro	Paulista-Abreu e Lima-Igarassu
Estuário do rio Paratibe	-	Paratibe-Fragoso	Paulista-Olinda
Estuário do rio Beberibe	-	Beberibe	Olinda-Recife
Estuário do rio Capibaribe	-	Capibaribe-Pina-Jordão-Tejipió-Jiquiá	Recife
Estuário dos rios Jaboatão e Pirapama	1.284	Jaboatão e Pirapama	Cabo e Jaboatão
Estuário dos rios Sirinhaém e Maracaípe	3.335	Sirinhaém-Maracaípe	Ipojuca-Sirinhaém
Estuário do rio Formoso	2.724	Formoso-Dos Passos-Ariquindá	Sirinhaém-Rio Formoso
Estuário do rio Mamucabas e Ilhetas	402	Mamucabas e Ilhetas	Tamandaré e Barreiros
Estuário do rio Una	553	Una	Barreiros-São José da Coroa Grande
Total	23.973	-	-

Fonte: Proteção das Áreas Estuarinas – FIDEM (1996).

As florestas de mangue do litoral brasileiro são compostas basicamente por três gêneros: *Avicennia* (Avicenniaceae), *Laguncularia* (Combretaceae) e *Rhizophora* (Rhizophoraceae), podendo existir ainda representantes do gênero *Conocarpus* (Combretaceae), encontrados nas bordas das florestas, comuns no litoral norte em ambiente de restinga (BARROS *et al.*, 2000).

Segundo Vasconcelos Sobrinho (1937), encontravam-se ao longo dos Rios Capibaribe e Beberibe, cinco espécies de plantas pertencentes a três famílias distintas: Avicenniaceae (*Avicennia nitida* e *A. tomentosa*), Combretaceae (*Conocarpus erectus* e *Laguncularia racemosa*), Rhizophoraceae (*Rhizophora mangle*). Hoje, apenas *R. mangle* e *L. racemosa* podem ser encontradas nos manguezais do Recife.

O complexo estuarino do Canal de Santa Cruz é do tipo ribeirinho e recobre uma área de aproximadamente 5.292 hectares, a vegetação é constituída, em sua maioria, por três espécies: *A. schaueriana*, *L. racemosa* e *R. mangle* (SILVA, 1995).

Segundo Medeiros (1996), o bosque de mangue do estuário do Rio Paripe, um dos mais expressivos da área, tem uma densidade média-alta de 3.487 indivíduos por hectare (ind. ha.⁻¹), sendo *R. mangle* a espécie com maior número de indivíduos (74,3%), seguida por *L. racemosa* (19,9%), *A. schaueriana* (5,8%) e uma pequena participação de *C. erectus*, *Dalbergia ecastophyllum*, *Annona glabra* e, ainda, várias espécies da família Poaceae e Cyperaceae (LACERDA, 1994; COSTA, 2003).

O manguezal abrange uma área de 37,4 hectares, dos quais 80% correspondem a áreas cobertas por mangues. A ação antropogênica neste ambiente é considerada mínima, vivendo a população local, basicamente, de atividade agrícola e pesca (LACERDA, 1994; SANTOS, 2001; COSTA, 2003).

As plantas de mangue são conhecidas vulgarmente por mangue vermelho, branco, preto e de botão. A espécie *R. mangle*, também chamada mangue vermelho ou gaitero apresenta uma casca lisa, que quando raspada tem coloração avermelhada. É uma espécie que se desenvolve melhor em ambientes com teores de sal menores que 50 partes de sal por 1.000 partes de água (BARROS *et al.*, 2000).

A espécie *L. racemosa* ou mangue branco apresenta suas folhas com pecíolo vermelho com duas glândulas na parte superior. Possui tolerância intermediária ao sal e encontra-se geralmente associada com *Avicennia* sp. (BARROS *et al.*, 2000).

O mangue preto ou *Avicennia* sp. possui uma casca lisa, que quando raspada apresenta coloração amarelada. É encontrada em áreas com alta salinidade, principalmente em desembocaduras dos rios (BARROS *et al.*, 2000).

Por outro lado, a espécie *C. erectus* ou mangue botão é considerado um mangue associado por não apresentar algumas das características apontadas como mangue verdadeiro, tais como: raízes aéreas, viviparidade e por se localizarem em regiões altas e muito próximas as ervas daninhas (SHAEFFER-NOVELLI, 1995; BARROS *et al.*, 2000; KATHIRESAN & BINGHAM, 2001).

Os manguezais são ecossistemas de grande importância no equilíbrio ecológico das regiões tropicais. Sua principal importância é servir de berçário para várias espécies animais, bem como, ser responsável pelo fornecimento de matéria orgânica para o ambiente marinho. Representam áreas de grande interesse para a população humana, em virtude de sua importância sócio-econômica, reconhecida principalmente pelos seguintes aspectos: a) exclusividade de sua flora; b) beleza estética e potencial como atrativo turístico; c) produção pesqueira; d) potencial como

fonte de madeira e combustível; e) contribui para estabilizar as formações litorâneas (BARROS *et al.*, 2000).

Com o desenvolvimento de centros urbanos, verificou-se uma redução nas áreas cobertas por mangues, o que resultou na destruição irreversível dos manguezais em decorrência dos desmatamentos e aterros necessários para instalação de indústrias, complexos imobiliários, hoteleiros e portuários.

Um aspecto importante na questão do desmatamento refere-se à perda do conhecimento sobre o uso medicinal dessas plantas pelas populações a elas associadas. A preocupante taxa de extinção das espécies vegetais leva a necessidade de considerar ações e propostas para que a herança genética dessas espécies possa ser preservada (BORRIS, 1996).

Na tabela 2 encontram-se descritos estudos realizados com plantas de manguezal e utilizados na medicina popular, como por exemplos, o uso da casca de *L. racemosa* em casos de febre e afta, a casca de *C. erectus* utilizada para combater anemia, conjuntivite, diabete, diarreia, febre e hemorragia, *A. nitida* tem ação adstringente, antitumoral, cicatrizante, repelente e tônica. *R. mangle* tem ação adstringente, expectorante, antiinflamatória, cicatrizante, hemostática e anti-hemorrágica (IRVINE, 1961; HARTWELL, 1971; DUKE & WAIN, 1981; MORTON, 1981).

Tabela 2. Utilização das plantas de manguezais na medicina popular.

Família	Plantas	Nome Vulgar	Parte Usada	Uso Medicinal
Avicenniaceae	<i>Avicennia marina</i> (Forssk) Vierh.			¹ Afrodisíaca, Adstringente ² Citotóxica, Antimicrobiana ³ Doenças na Pele e Antimalária
	<i>Avicennia alba</i> Blume.			⁴ Quimiopreventiva
	<i>Avicennia rumphiana</i> Hall.	Mangue Preto	Partes Aéreas	⁴ Quimiopreventiva
	<i>Avicennia nitida</i> Jacq.			⁵ Adstringente, Repelente ⁶ Hemorragia, Reumatismo ⁷ Antitumoral e Cicatrizante
	<i>Avicennia officinalis</i> L.			⁸ Antitumoral, Afrodisíaco
Combretaceae	<i>Conocarpus erectus</i> L.	Mangue de Botão	Partes Aéreas	⁵ Adstringente, Tônico ⁶ Antitérmico e Antitumoral
	<i>Laguncularia racemosa</i> Gaertn.	Mangue Branco	Casca	⁹ Antitérmico e Antitumoral
	<i>Combretum</i> spp., <i>Terminalia</i> spp.			¹⁰ Doenças Gastrointestinais
	<i>Pteleopsis</i> spp.	Não	Folhas	¹¹ Antimicrobiana, Cicatrizante ¹² Antifúngica e Antiparasítica
Rhizophoraceae	<i>Rhizophora mangle</i> L.	Mangue Vermelho	Casca	¹³ Adstringente, Anti-séptica ¹⁴ Hemostática, Antiulcerogênica ¹⁵ Antimicrobiana e Cicatrizante

¹ Hogg & Gillan (1984); ² Koning *et al.* (1985); ³ Mahasneh (2002); ⁴ Itoigawa *et al.* (2001); ⁵ Hartwell (1971), ⁶ Duke & Wain (1981); ⁸ Garcia-Barriga (1975); ⁹ Morton (1981); ¹⁰ Kerharo (1974); ¹⁰ Saxena (1979), ¹¹ Almagboul *et al.* (1988); ¹¹ Alexander *et al.* (1992); ¹² Baba - Moussa *et al.* (1999); ¹³ Roig (1974); ¹⁴ Cáceres *et al.* (1991a); ¹⁵ Melchor *et al.* (2001) e ¹⁵ Pereira *et al.* (2001).

2.2. Antifúngicos

Um dos primeiros agentes utilizados na terapêutica contra espécies de fungos foi a griseofulvina. Seu mecanismo de ação ainda é desconhecido, a explicação mais favorável é que ele interfira na formação dos microtúbulos. Devido a sua toxicidade moderada, foi durante algum tempo usado com frequência, mas seu espectro de ação fica restrito a apenas alguns dermatófitos (ODDS *et al.*, 2003).

5-fluorocitosina, um análogo da droga antineoplásica 5-fluorouracil, é utilizada no tratamento de infecções causadas por *Cryptococcus neoformans* e espécies de *Candida*. Ela atua ao nível de síntese protéica, mas tem seu uso clínico limitado pelo aparecimento de amostras resistentes, principalmente quando prescrito sem a associação de outra droga (PAUW, 2000).

Os antifúngicos *polienos*, anfotericina-B e nistatina, são efetivos contra um amplo espectro de fungos patógenos, mas têm uso reduzido devido a sua alta toxicidade. A anfotericina-B é a substância mais utilizada em casos de infecções fúngicas sistêmicas. O mecanismo de ação da anfotericina-B é através de sua ligação com o ergosterol, principal esterol encontrado na membrana dos fungos, impedindo a integridade da membrana e permitindo a entrada de vários íons. Por outro lado, devido à similaridade do ergosterol com a molécula de colesterol encontrada nas células dos mamíferos, o uso de anfotericina-B é sempre acompanhado por observações médicas para tentar minimizar seus efeitos colaterais, como por exemplo, a nefrotoxicidade. No entanto, a anfotericina-B apesar de ser ativo contra várias espécies de fungos, apresenta resistência primária de *C. lusitaniae* (PAUW, 2000; ODDS *et al.*, 2003).

Os *azoles* representam a maior classe de antifúngicos utilizados na terapêutica e é dividido em dois grupos: os *imidazoles*, como o cetoconazol e miconazol e os *triazoles*, como o fluconazol e itraconazol. Seu principal mecanismo de ação é inibir 14 α -desmetilação do lanosterol na via de biosíntese do ergosterol (ODDS *et al.*, 2003).

O fluconazol é efetivo em casos de infecções causadas por algumas espécies de *Candida* em pacientes neutropênicos. No entanto, seu uso não é recomendado em caso de infecções por *C. krusei*, *C. glabrata* e por fungos filamentosos oportunistas. Ao contrário do fluconazol, o itraconazol oferece uma ampla cobertura em infecções por espécies de *Aspergillus* e fungos dimórficos, mas o aumento de espécies resistentes a este antifúngico tem refletido de forma negativa no uso de outros *triazoles*. Entretanto, os *triazoles* interagem com o citocromo P-450 e pode causar distúrbios hepáticos (PAUW, 2000; CHIOU *et al.* 2000; KARTSONIS *et al.*, 2003).

Atualmente, o número de medicamentos disponíveis para o tratamento de infecções fúngicas é limitado. Basicamente, restringe-se aos *polienos* convencionais e a primeira geração dos *triazoles*, fluconazol e itraconazol. Muitas vezes, o uso concomitante de anfotericina-B e um derivado *azole*, principalmente fluconazol, torna-se uma prática adotada na terapêutica como estratégia de segurança e eficácia (KARTSONIS *et al.*, 2003).

Em 2003, Kartsoni *et al.*, relatam uma nova formulação intravenosa de itraconazol e uma segunda geração de *triazoles*, como o voriconazol, ravuconazol e posaconazol que auxiliam no tratamento de infecções graves causadas por fungos filamentosos. Apesar desses avanços, a membrana celular continua ser o principal alvo dos antifúngicos. Entretanto, pesquisas estão sendo desenvolvidas com a

finalidade de se obter novas moléculas com mecanismos de ação específico e, mais recentemente, descobriu-se uma nova classe de antifúngicos, as *equinocandinas*, que inibe a síntese de β (1,3) D-glucana, um componente essencial da parede celular de muitos fungos patogênicos inclusive espécies de *Candida* e de *Aspergillus*.

A parede celular é o único componente não encontrado nas células dos mamíferos, e como resultado, essa nova classe de antifúngicos representa um grande avanço na terapêutica e vários estudos estão sendo realizados com a associação das *equinocandinas* e *azoles* no tratamento de infecções fúngicas sistêmicas (KARTSONIS *et al.*, 2003; ODDS *et al.*, 2003).

As infecções humanas constituem um sério problema, particularmente aquelas envolvendo a pele e mucosas, principalmente nos países tropicais e subtropicais em desenvolvimento onde as espécies de *Candida* e alguns fungos dermatófitos são os patógenos mais comuns. Além disso, o número de casos envolvendo pacientes imunocomprometidos que desenvolvem micoses superficiais e profundas tais como candidíase, cryptococose e aspergilose têm aumentado significativamente, especialmente naqueles com AIDS (PORTILLO *et al.*, 2001).

Stein & Sugar (1989) verificaram que a etiologia do microrganismo varia dependendo do tipo da disfunção imunológica. Pacientes com neutropenia induzida pela quimioterapia são mais susceptíveis a infecções por espécies de *Candida* e de *Aspergillus*. Pacientes com AIDS são susceptíveis a candidíase mucocutânea e pulmonar, assim como cryptococose disseminada.

O principal agente da candidíase humana é a *C. albicans*, mas estudos feitos recentemente indicam que outras espécies não-*C. albicans* como *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei* são isolados com maior freqüência em pacientes

imunocomprometidos. Todavia, pacientes que são submetidos a procedimentos diferenciados, como introdução de catéteres ou injeção intravenosa, são freqüentemente infectados por *C. parapsilosis* (ODDS, 1993; PFALLER, 1994).

Uma pesquisa realizada no Hospital Universitário de Taiwan revelou que entre as espécies de *Candida* isoladas de pacientes com infecção nosocomial, no período de 1981-1988, 59% era *C. albicans* e 22% era *C. tropicalis*. No período de 1989-1993, as proporções caíram para 49% e 17%, respectivamente, com o aumento concomitante de 14% para *C. parapsilosis* e 9% para *C. glabrata* (CHEN *et al.*, 1996).

Aspergilose é a segunda micose mais comum em pacientes imunocomprometidos ou neutropênicos, sendo a maioria causada por *A. fumigatus*, mas *A. glaucus*, *A. niger* e *A. flavus* têm sido isolados em menor freqüência (STEIN & SUGAR, 1989).

Outras espécies de fungos também estão associadas a infecções oportunistas em pacientes com graves enfermidades. A fungemia causada pelo gênero *Trichosporon* tem aumentado nos últimos anos, principalmente em pacientes com neutropenia profunda e distúrbios hematológicos. A trichosporonose é causada principalmente por seis espécies: *Trichosporon asahii*, *T. mucoides*; *T. beigelii* e *T. asteróides*, *T. ovoides* e *T. inkin*. Raramente infecções são causadas por *T. pullulans* e *T. domesticum* (KUNOVÁ *et al.*, 1996; MORETTI-BRANCHINI *et al.*, 2001).

Em casos de pacientes imunocomprometidos, *T. beigelii* pode causar fungemia e levar a morte. A terapia para este microrganismo nem sempre é otimizada, mas inclui o uso de substâncias antifúngicas como anfotericina-B, fluconazol, miconazol, itraconazol e 5-fluorocitosina (CAWLEY *et al.*, 2000).

Os recentes avanços na terapia e no diagnóstico na medicina têm aumentado a população de pacientes com imunossupressão. Estes pacientes são submetidos a vários procedimentos e condições que predispõem a infecções graves. Durante as duas últimas décadas, o tratamento para leucemia tem mudado significativamente. O grau de intensidade da quimioterapia e o transplante de medula óssea terminam causando uma forte imunossupressão, conseqüentemente, o tempo em hospitais é prolongado e faz-se necessário o uso de cateteres, antibióticos com amplo espectro e antifúngicos (KREMERY *et al.*, 1999).

Estes fatores de risco têm mudado o espectro de patógenos que causam infecções sistêmicas em favor das espécies não-*Candida*. Um estudo realizado em um centro hematológico da Europa demonstrou a proporção de espécies não-*Candida* relacionadas com infecções isoladas de pacientes, houve um aumento de 5% na década de 80, de 25% na década de 90 e espécies de *Trichosporon* foram as principais causas de infecções em pacientes com câncer (KREMERY *et al.*, 1999).

A grande incidência de fungos resistentes aos antifúngicos colabora para o surgimento de novas infecções oportunistas. Law *et al.* (1996) estudaram a resistência por *C. tropicalis* isolada de pacientes com AIDS aos antifúngicos, 48% foram resistentes a fluconazol, 33% para cetoconazol, 17% para 5-fluorocitosina e 17% para itraconazol; o que se pode concluir que *C. tropicalis* deve ser adicionada à lista de leveduras que apresentam resistência aos antifúngicos de uso contínuo e é comumente encontrada em unidades de tratamento intensivo (UTI) (ODDS, 1993).

Silva *et al.* (1998) analisaram a freqüência das espécies de *Candida* resistentes aos derivados *azoles* isoladas da mucosa oral de pacientes com AIDS; sendo 25,42% resistentes a itraconazol, 45,76% a cetoconazol e 66,10% a fluconazol.

Diante do aumento de fungos resistentes aos fármacos, novas opções na terapêutica devem ser cuidadosamente avaliadas de modo a reduzir o uso indiscriminado de antifúngicos. Principalmente no que se refere à toxicidade, qualidade de vida e saúde.

2.3. Plantas Utilizadas na Medicina Popular

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), as plantas medicinais são as melhores fontes para obtenção de novos fármacos. Cerca de 80% dos indivíduos de países desenvolvidos usam a medicinal tradicional, que tem compostos derivados de plantas medicinais. Diante desta realidade, as plantas devem ser estudadas com mais intensidade para melhor entender suas propriedades (ELOFF, 1998).

A importância dos produtos naturais na medicina se baseia em seus efeitos farmacológicos, além de ser uma possibilidade para que se desenvolvam, a partir de sua estrutura, novos fármacos. Deste modo, o uso de extratos de plantas com propriedades antimicrobianas conhecidas podem ser de grande significado na medicina. Muitas plantas são utilizadas por suas propriedades farmacológicas devido aos metabolitos secundários, tais como os compostos fenólicos presentes em óleos essenciais e os taninos (SAXENA *et al.*, 1994; MÁRQUEZ *et al.*, 2003).

Solis (1992) estudou a atividade antimicrobiana de diterpenóides isolados de *Eupatorium glutinosum* (Asteraceae) frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. E relaciona as propriedades dessa planta utilizada na medicina tradicional como agente adstringente, anti-reumático, em casos de diarreia e dores de cabeça.

Outro trabalho realizado por Ferrea *et al.* (1993) demonstrou a atividade antiviral contra HSV-1 e HSV-2 de extratos obtidos de *Combretum micrantum* (Combretaceae).

Martini & Eloff (1998) estudaram a atividade antimicrobiana do extrato das folhas de *Combretum erythrophylum*. Dos quatro microrganismos testes utilizados

Staphylococcus aureus foi o mais sensível (100%), seguido por *Enterococcus faecalis* (36%), *Escherichia coli* (11%) e *Pseudomonas aeruginosa* (3%).

A atividade antibacteriana da casca de *R. mangle* contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas foi estudada por Melchor *et al.* (2001). Além da atividade antibacteriana, *R. mangle* apresenta propriedade adstringente, cicatrizante, hemostática, antimicrobiana, antiviral (ROIG, 1974; ROIG, 1988; CÁCERES *et al.*, 1991a; CÁCERES *et al.*, 1993).

Itoigawa *et al.* (2001) isolaram naftoquinonas e seus análogos de *Avicennia alba* e *A. rumphiana* com atividade contra o vírus Epstein-Barr e com atividade quimiopreventiva contra o câncer.

Nawaz *et al.* (2001) testaram a atividade biológica do extrato bruto de *Trianthema portulacastrum* (Aizoaceae) contra fungos patogênicos. *Trichophyton schoenleinii* apresentou uma sensibilidade de 71,4 % ao extrato bruto.

O extrato metanólico e aquoso de *Alstonia macrophylla* (Apocinaceae) demonstraram atividade antimicrobiana frente a bactérias e dermatófitos (CHATTOPADHYAY *et al.*, 2001).

Katerere *et al.* (2003) isolaram triterpenos pentacíclicos de *Combretum imberbe* e *Terminalia stuhlmannii* (Combretaceae) e testaram a atividade biológica contra bactérias e fungos. *Mycobacterium fortuitum* e *S. aureus* foram os microrganismos mais sensíveis, enquanto *E. coli* e *C. albicans* foram os mais resistentes.

Recentemente, Coelho de Souza *et al.* (2004) realizaram um estudo sobre a atividade antimicrobiana de plantas medicinais no sul do Brasil. Das 18 plantas estudadas, a casca de *Parapiptadenia rigida* (Fabaceae) foi ativa para as bactérias *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Bacillus subtilis* e *Micrococcus luteus*.

O grande potencial das plantas no tratamento terapêutico revelado pela literatura estimula a busca pela descoberta de novos compostos que apresentem alguma atividade biológica. Plantas da flora brasileira, devido a sua megadiversidade, estão sendo exploradas na medicina popular. Muitos compostos secundários com ação bioativa foram identificados, como terpenos, lactonas, flavonóides, entre outros (CECHINEL FILHO, 2000).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Área de Estudo

O estudo foi realizado no estuário do Rio Paripe em Vila Velha, Município da Ilha de Itamaracá (7°34'00"– 7°55'16" latitude Sul e 34°48'48"– 34°52'24" longitude Oeste) localizado no litoral norte do estado de Pernambuco, a 50 Km da cidade do Recife pela BR-101, na direção S-N. Possui uma área de 65 Km² e está separada do continente pelo Canal de Santa Cruz.

3.2. Coletas

As folhas e cascas de ¹*Avicennia* amostra 1 e *Avicennia* amostra 2, *C. erectus*, *L. racemosa* e *R. mangle*, foram coletadas no Estuário de Rio Paripe, Vila Velha, Ilha de Itamaracá, PE, no mês de Outubro/2002 durante a maré baixa.

As folhas e cascas foram retiradas com o auxílio de uma tesoura de jardinagem, acondicionadas em sacos plásticos e levadas ao laboratório. Em seguida, foram colocadas para secar em uma estufa a 60°C e trituradas em moinho no Laboratório de Nutrição Animal (UFRPE).

¹Foram encontradas duas plantas com características de *Avicennia*, mas pela ausência de florescência durante as coleta não foram identificadas no decorrer do trabalho, portanto, receberam a denominação amostra 1 e amostra 2.

3.3. Abordagem Fitoquímica

A abordagem fitoquímica das espécies vegetais do manguezal foi conduzida seguindo a metodologia descrita em Costa (1994) para as principais classes de compostos:

3.3.1. Alcalóides

A presença de alcalóides foi observada através do ensaio confirmativo específico que consiste em dissolver 1 g de material triturado em 10 mL de HCl 1%, em seguida aquecer a mistura em banho-maria numa temperatura de 100°C durante 2 minutos. Posteriormente, filtra-se e coloca-se uma alíquota do Reativo de Meyer, a presença de alcalóides é confirmada pelo aparecimento de precipitado esbranquiçado.

3.3.2. Flavonóides

A presença de flavonóides foi determinada pelo teste de Shinoda. Dissolve-se 1 g de material triturado em 5 mL de metanol (MeOH). Filtra-se a solução e adiciona-se 1 mL de ácido clorídrico (HCl) concentrado. Posteriormente, deixa a solução reagir com uma fita de magnésio. O aparecimento da coloração rosa caracteriza a presença de flavonóides na planta.

3.3.3. Saponinas

A presença de saponinas foi determinada pelo teste de espuma. Adiciona-se a 1 g de material triturado, 5 mL de água destilada. Agitar vigorosamente durante 5 minutos e a formação de espuma persistente por 30 minutos evidenciará a presença de saponinas.

3.3.4. Taninos

Os taninos tiveram sua presença determinada pelo método de cloreto férrico, adicionando-se 1g de material triturado de cada planta com 10 mL de água destilada. Posteriormente, filtra-se a solução e goteja lentamente com a solução de cloreto férrico 1%. O surgimento de uma coloração ou precipitado verde ou azul indicará reação positiva para taninos.

3.3.5. Terpenos e Esteróides

Os terpenos e esteróides tiveram sua presença determinada pelo método de Liebermann-Buchard, que consiste em dissolver 1 g de material triturado em 3 mL de clorofórmio (CHCl_3). Em seguida, filtra-se a solução e, ao filtrado, junta-se 2 mL de anidrido acético e agita vagarosamente. Posteriormente, adiciona-se quantidade suficiente de ácido sulfúrico (H_2SO_4) para o aparecimento sucessivo das cores rosa, azul e verde, caracterizando a presença de terpenos e esteróides.

3.4. Preparação dos Extratos Brutos

As folhas e as cascas das plantas do manguezal foram submetidas a três extrações sucessivas com MeOH durante 24 horas, à temperatura ambiente (Tabela 3). Em seguida, os extratos foram evaporados utilizando um evaporador rotatório a 45°C.

Tabela 3. Peso seco e volume do solvente utilizado na extração das plantas do manguezal usadas para obtenção dos extratos.

Plantas	Parte da Planta	Peso seco (g)	Volume do solvente (mL)
	Material triturado	Metanol	
<i>Avicennia</i> amostra 1	Folha	36,2	1000
	Casca	8,3	1000
<i>Avicennia</i> amostra 2	Folha	51,3	1000
	Casca	25,5	1000
<i>Conocarpus erectus</i>	Folha	52,3	1000
	Casca	10,2	1000
<i>Laguncularia racemosa</i>	Folha	78,4	1000
	Casca	119,1	1000
<i>Rhizophora mangle</i>	Folha	64,1	1000
	Casca	113,7	1000

3.5. Atividade Antifúngica dos Extratos Brutos

3.5.1. Microrganismos Testes

Os microrganismos que foram usados para o teste de atividade antifúngica pertencem a Micoteca do Departamento de Micologia/UFPE. Todos os fungos foram mantidos em meio Ágar Sabouraud (SAB) a uma temperatura de 4°C. Na Tabela 4, encontram-se os fungos utilizados e o número de registro na Micoteca.

Tabela 4. Fungos utilizados para o teste de atividade e seus respectivos números de registros na Micoteca.

Microrganismo	Número do Registro
<i>Candida albicans</i>	URM 4385
<i>Candida glabrata</i>	URM 4264
<i>Candida parakrusei</i>	URM 1134
<i>Candida parapsilosis</i>	URM 4607
<i>Candida tropicalis</i>	URM 4262
<i>Trichosporon beigelii</i>	URM 4437
<i>Trichosporon pullulans</i>	URM 4259
<i>Epidermophyton floccosum</i>	URM 4150
<i>Microsporum gypseum</i>	URM 3645
<i>Trichopyton mentagrophytes</i>	URM 4156
<i>Trichophyton rubrum</i>	URM 4569

3.5.2. Antifúngicos

Foram utilizados, de acordo com *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) (M27-A2), os antifúngicos: cetoconazol (Teuto), nas concentrações de 5, 10, 50, 100 e 128 μ g/mL; fluconazol (Hexal), nas concentrações de 1, 2, 4, 6 e 8 μ g/mL; itraconazol (Neo Química), nas concentrações de 5, 10, 25, 50 e 64 μ g/mL. Todos os antifúngicos foram retomados em dimetilsulfóxido (DMSO).

3.5.3. Teste de Atividade Antifúngica

3.5.3.1. Método de Difusão em Disco

O teste de atividade antifúngica foi realizado segundo Bauer *et al.* (1966). Foram preparadas suspensões com 3×10^8 células/mL (tubo 1 da escala de Mac Farland) para as leveduras e suspensões contendo hifas e esporos para os dermatófitos. Posteriormente, foram inoculadas com *swab* em placas de Petri contendo meio sólido YNBD (*Yeast Nitrogen Base Dextrose*). Discos de papéis com 50 μ l de extrato bruto na concentração de 900 mg/mL foram depositados nas placas previamente preparadas (meio + fungo). As placas foram incubadas a uma temperatura de 37°C para as leveduras e 30°C para os dermatófitos. Os resultados foram avaliados de acordo com a formação de halos de inibição em torno dos discos após 24 horas para as leveduras e 48 horas para os dermatófitos. Todo experimento foi realizado em duplicata e o valor final corresponde à média aritmética expressa em milímetros.

3.6. Determinação da Concentração Mínima Inibitória

Para a determinação da concentração mínima inibitória, utilizaram-se os extratos que apresentaram melhor atividade antifúngica. Foi realizado o teste de microdiluição para as leveduras e o teste de macrodiluição para os dermatófitos e utilizados os antifúngicos cetoconazol, itraconazol e fluconazol nas diferentes concentrações referidas acima, de acordo com as normas do NCCLS. Os extratos das plantas foram diluídos na proporção de 1:2 v/v (concentrações de 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25 e 15,625 mg/mL).

3.6.1. Método de Microdiluição

A determinação da concentração mínima inibitória para as leveduras foi realizada pelo método de microdiluição segundo a metodologia descrita por Lorian (1986) e de acordo com as normas do protocolo NCCLS (M27-A2). Para este ensaio, foram utilizadas microplacas com 96 poços (Difco) e suspensões com 3×10^8 células/mL (tubo 1 da escala de Mac Farland) utilizando o meio YNBD. Em cada poço foi colocado 50 μ L de meio YNBD, 30 μ L dos extratos nas diferentes concentrações e 50 μ L da suspensão de leveduras. Foram feitos dois controles positivos: o primeiro foi representado pelo meio de cultura mais as leveduras e o segundo pelo meio de cultura, as leveduras e o solvente, sem os extratos testados. Para o controle negativo, foram usados os antifúngicos nas respectivas concentrações descritas no item 3.5.2. Em cada poço foi colocado 50 μ L de meio líquido YNBD, 50 μ L da suspensão de leveduras e 30 μ L dos antifúngicos nas diferentes concentrações. As microplacas foram incubadas a uma temperatura de 37°C e foram realizadas leituras após 24 horas utilizando um leitor de ELISA a 595 nm.

3.6.2 Método de Macrodiluição

A determinação da concentração mínima inibitória para os dermatófitos foi realizada pelo método de macrodiluição segundo a metodologia descrita por Lorian (1986) e de acordo com as normas do protocolo NCCLS (M38-P). Foram preparadas suspensões contendo hifas e esporos para cada dermatófito e os extratos foram diluídos nas concentrações descritas no item 3.6. Em cada tubo de ensaio, colocou-se 1 mL de meio líquido YNBD, 150 μ L dos extratos nas diferentes concentrações e 500 μ L da suspensão de cada dermatófito. Para o controle positivo, fez-se tubos de ensaio contendo o meio de cultura mais a suspensão dos dermatófitos, sem os extratos testados. Para o controle negativo, foram usados os antifúngicos nas respectivas concentrações descritas no item 3.5.2. Preparou-se tubos de ensaio contendo 1 mL de meio líquido YNBD, 150 μ L dos antifúngicos nas diferentes concentrações e 500 μ L da suspensão de cada dermatófito. Os tubos de ensaio foram incubados a uma temperatura de 30°C e os resultados avaliados após 24 e 48 horas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Abordagem Fitoquímica

O resultado da abordagem fitoquímica para as plantas do manguezal pode ser visualizado na tabela 5. As duas amostras de *Avicennia* tiveram perfis semelhantes, mas apenas a casca da amostra 1 apresentou uma forte intensidade para terpenos e esteróides.

Os resultados apresentados na tabela 5 são corroborados por Wannigama *et al.* (1981), que indicaram a presença de sitosterol como sendo o principal esteroide encontrado em *A. marina*. Posteriormente, Hogg & Gillan (1984) reforçaram que sitosterol está presente em grande quantidade nas folhas de *A. marina* e *A. marina* var. *resinifera*, seguido por estigmasterol, colesterol e campesterol. Por outro lado, Ghosh *et al.* (1985) isolaram os triterpenos α -amirina, β -amirina, lupeol e os esteróides sitosterol e estigmasterol das folhas de *A. officinalis*.

A presença de taninos é muito fraca nas amostras 1 e 2 de *Avicennia*. Esses resultados estão de acordo com Perry (1980), que detectou a presença de taninos e lapachol na casca de *A. officinalis*, mas segundo o *Council of Scientific and Industrial Research* (CSIR) a quantidade de taninos é inferior a 2,5%.

As amostras de *C. erectus* e *L. racemosa* exibiram uma forte intensidade para taninos. Esses resultados estão condizentes com Irvine (1961), que encontrou valores que variam entre 16-18% de taninos na casca de *C. erectus* e, entre 10-20% e 12-24% nas folhas e casca de *L. racemosa*, respectivamente. Baba-Moussa *et al.* (1999) revelaram a presença, em estudo fitoquímico, de grande quantidade de

taninos e saponinas em *Combretum nigricans*, *Pteleopsis suberosa* e *Terminalia avicennioides*, representantes da família Combretaceae.

A presença de flavonóides para *C. erectus* e *L. racemosa* é semelhante. Segundo Larcher (2000), os flavonóides são classificados dentro do grupo dos compostos fenólicos e possuem várias substâncias com atividade biológica (Ex. Eupatorina).

R. mangle também exibiu forte intensidade para os taninos. Em 1965, Morton descreve que a casca de *R. mangle* é rica em taninos (10-40%) e ácido queretânico. Entretanto Melchor *et al.* (2001) verificou uma porcentagem entre 20-40% de taninos na casca de *R. mangle*.

Tabela 5. Resultado da abordagem fitoquímica para as plantas do manguezal.

Plantas	Parte da Planta	Grupos				
		Alcalóides	Flavonóides	Saponinas	Taninos	Terpenos e Esteróides
<i>Avicennia</i> amostra 1	Folha	-	-	-	+	+
	Casca	-	+	-	++	+++
<i>Avicennia</i> amostra 2	Folha	-	-	-	+	+
	Casca	-	+	-	++	+
<i>Conocarpus erectus</i>	Folha	-	++	-	+++	+
	Casca	-	++	-	+++	+
<i>Laguncularia racemosa</i>	Folha	-	++	-	+++	+
	Casca	-	++	-	+++	+
<i>Rhizophora mangle</i>	Folha	-	+	-	++	+
	Casca	-	+	-	+++	+

+ Fraca Intensidade; ++ Média Intensidade; +++ Forte Intensidade.

- Não Reativo

A presença de alcalóides e saponinas não foi detectada nas plantas do manguezal. Não existe, atualmente, nenhum registro na literatura sobre a presença desses grupos químicos em mangue.

4.2. Rendimento dos Extratos Brutos

O rendimento, em porcentagem, dos extratos brutos está apresentado na tabela 6. O extrato da casca de *Avicennia* amostra 1 obteve melhor rendimento (14,45%), partindo de um peso inicial de 8,3 g; enquanto o extrato da casca de *L. racemosa* foi o de menor rendimento (7,05%), com um peso inicial de 119,1 g (Tabela 6). Com exceção das amostras de *C. erectus* e *R. mangle*, os demais extratos tiveram melhor rendimento na folha do que na casca (Tabela 6).

Tabela 6. Rendimento do extrato bruto das plantas do manguezal.

Plantas	Parte da Planta	*Peso Inicial(g)	**Peso Final (g)	Rendimento (%)
<i>Avicennia</i> amostra 1	Folha	36,2	6,1	16,85
	Casca	8,3	1,2	14,45
<i>Avicennia</i> amostra 2	Folha	51,3	12,8	24,95
	Casca	25,5	3,6	14,11
<i>Conocarpus erectus</i>	Folha	52,3	7,9	15,10
	Casca	10,2	2	19,60
<i>Laguncularia racemosa</i>	Folha	78,4	22	28,06
	Casca	119,1	8,4	7,05
<i>Rhizophora mangle</i>	Folha	64,1	12,1	18,87
	Casca	113,7	22,8	20,05

* Material Triturado; ** Extrato Bruto Concentrado.

4.3. Teste de Atividade Antifúngica

4.3.1 Teste de difusão em disco

Os resultados obtidos no teste de difusão em disco para as leveduras estão apresentados na tabela 7. A casca de *Avicennia*, amostra 1, apresentou melhores resultados para a atividade biológica, as leveduras *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* foram às espécies mais sensíveis ao extrato, com halos de inibição de 19, 18 e 17 mm, respectivamente (Figura 1).

Tabela 7. Resultados do teste de difusão em disco dos extratos brutos metanólicos (1 g/mL) frente às leveduras.

Planta	Parte da Planta	Halo de Inibição (mm)						
		<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parakrusei</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>T. beigelii</i>	<i>T. pullulans</i>
<i>Avicennia</i> amostra1	Folha	-	-	-	14	-	-	-
	Casca	16,5	19	16,5	18	17	11,5	15
<i>Conocarpus erectus</i>	Folha	-	-	-	-	-	-	14,5
	Casca	-	15	16	10,5	15	9,5	16,5
<i>Laguncularia racemosa</i>	Folha	-	10	-	-	-	-	17,75
	Casca	-	-	-	-	-	-	-
<i>Rhizophora mangle</i>	Folha	-	-	-	-	-	10	10
	Casca	-	-	13	-	-	-	15

- Ausência de Atividade.

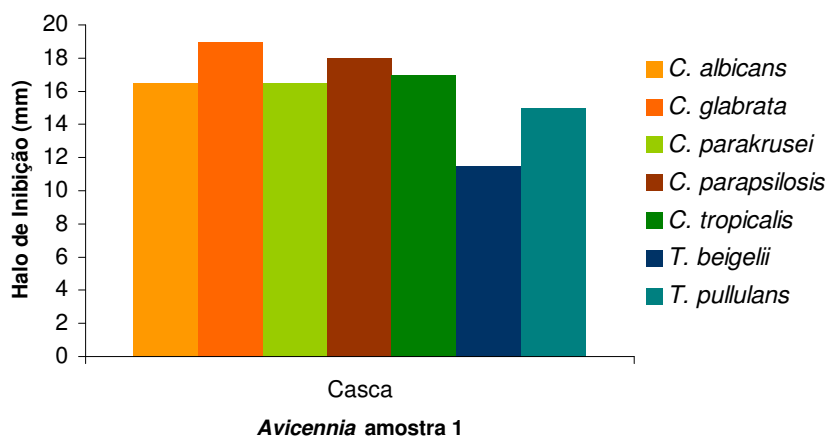


Figura 1. Atividade antifúngica do extrato da casca de *Avicennia amostra 1* frente às leveduras.

A casca de *C. erectus* também apresentou uma forte atividade antifúngica. Apenas *C. albicans* foi resistente ao extrato. *T. pullulans* foi o microrganismo mais sensível (16,5 mm), seguido por *C. parakrusei* (16 mm). As espécies *C. glabrata* e *C. tropicalis* mostraram a mesma sensibilidade ao extrato, com halo de inibição de 15 mm (Figura 2).

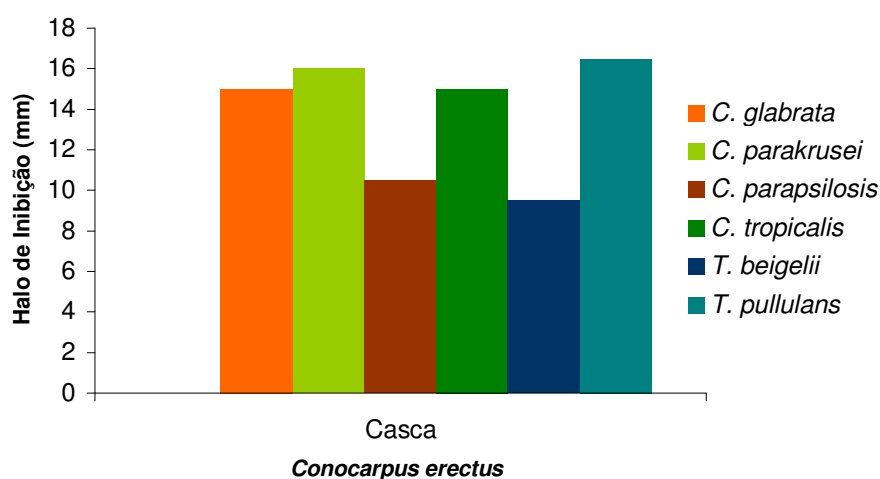


Figura 2. Atividade antifúngica do extrato da casca de *Conocarpus erectus* frente às leveduras.

O extrato da folha de *L. racemosa* foi ativo para *T. pullulans* (17,75 mm) e *C. glabrata* (10 mm). Por outro lado, extrato da folha de *R. mangle* apresentou atividade para *T. beigelii* (10 mm) e *T. pullulans* (10 mm) e o extrato da casca para *T. pullulans* (15 mm) e *C. parakrusei* (13 mm). Tanto *L. racemosa* quanto *R. mangle* demonstraram atividade intermediária.

Os extratos das folhas de *Avicennia* amostra 1 e *C. erectus* tiveram baixa atividade antifúngica e a amostra 2 de *Avicennia* não apresentou atividade para nenhuma das leveduras testadas.

Com base nesses resultados, foram selecionados para a determinação da concentração mínima inibitória os seguintes extratos: casca da amostra 1 de *Avicennia*, casca de *C. erectus*, folha de *L. racemosa* e casca de *R. mangle*.

O extrato da folha de *C. erectus* foi utilizado para determinar a concentração mínima inibitória apenas em *T. pullulans*, tendo em vista que esta espécie foi sensível a 75% dos extratos das plantas do manguezal.

Na tabela 8 estão representados os resultados do teste de difusão em disco para os fungos dermatófitos.

Tabela 8. Resultados do teste de difusão em disco dos extratos brutos metanólicos (1 g/mL) frente aos dermatófitos.

Planta	Parte da Planta	Halo de Inibição (mm)		
		<i>M. gypseum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>T. rubrum</i>
<i>Avicennia</i> amostra1	Folha	-	13	14,5
	Casca	33	43	45
<i>Conocarpus erectus</i>	Folha	29,5	33	35
	Casca	34	35	42
<i>Laguncularia racemosa</i>	Folha	32,5	34	36
	Casca	23	30	36,5
<i>Rhizophora mangle</i>	Folha	19	21,5	24
	Casca	24,5	24	32,5

- Ausência de Atividade.

Ao contrário das leveduras, todos os microrganismos testados apresentaram uma alta sensibilidade. O extrato da casca da amostra 1 de *Avicennia* revelou uma alta atividade. O fungo dermatófito *T. rubrum* foi o mais sensível (45 mm), seguido por *T. mentagrophytes* (43 mm) e *M. gypseum* (33 mm) (Figura 3).

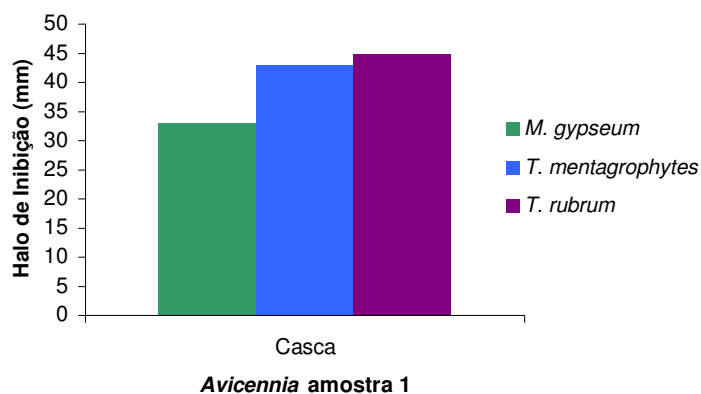


Figura 3. Atividade antifúngica do extrato da casca de *Avicennia* amostra 1 frente aos dermatófitos

Os halos de inibição para o extrato da folha de *C. erectus* foi de 35 mm para *T. rubrum*, 33 mm para *T. mentagrophytes* e 29,5 para *M. gypseum*, enquanto que o extrato da casca foi de 42 mm para *T. rubrum*, 35 mm para *T. mentagrophytes* e 34 para *M. gypseum* (Figura 4 e 5).

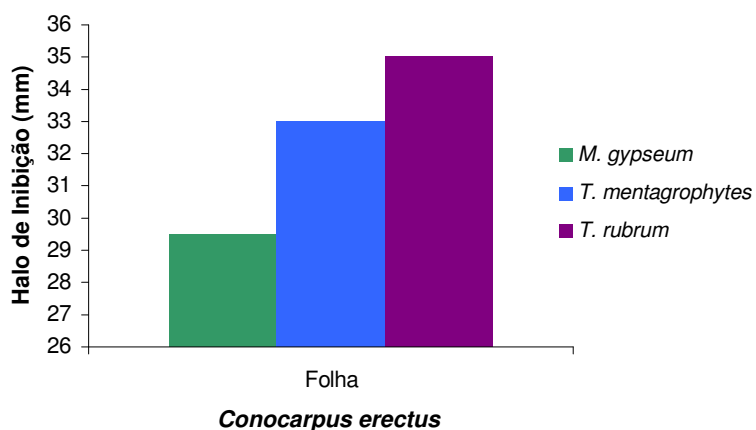


Figura 4. Atividade antifúngica do extrato da folha de *Conocarpus erectus* frente aos dermatófitos.

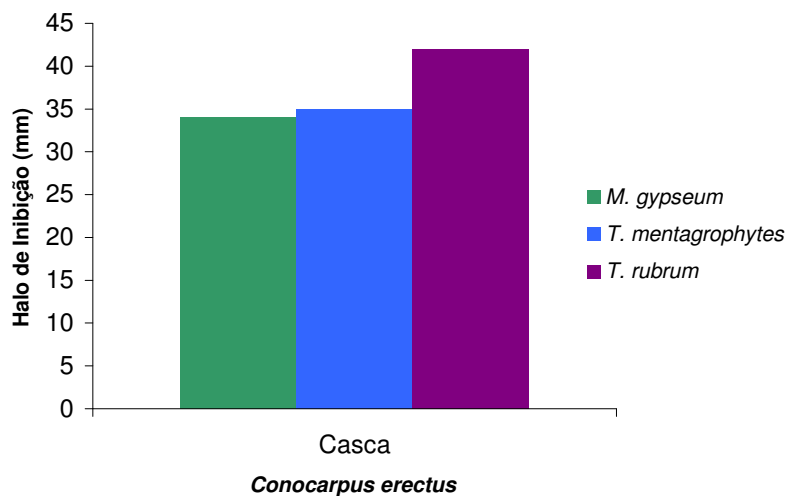


Figura 5. Atividade antifúngica do extrato da casca de *Conocarpus erectus* frente aos dermatófitos.

A atividade da folha de *L. racemosa* apresentou halos de 36 mm para *T. rubrum*, 34 mm para *T. mentagrophytes* e 32,5 para *M. gypseum* (Figura 6).

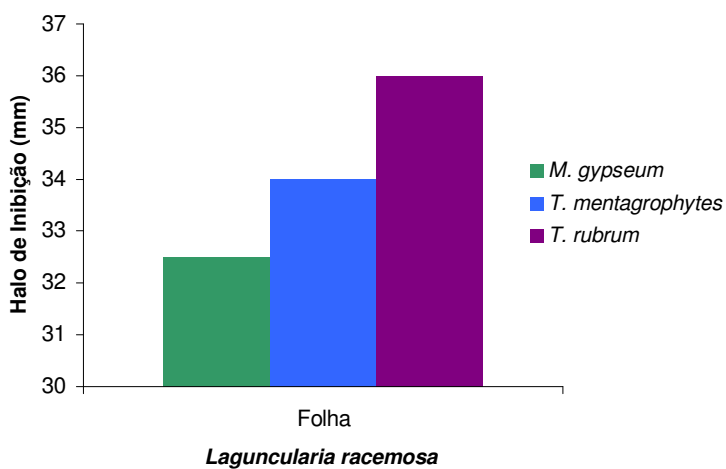


Figura 6. Atividade antifúngica do extrato da folha de *Laguncularia racemosa* frente aos dermatófitos.

Diante do bom resultado obtido neste experimento, todos os extratos apresentados na tabela 8 foram utilizados para a determinação da concentração mínima inibitória. Com exceção da amostra 2 de *Avicennia* que não demonstrou atividade para os fungos dermatófitos testados.

4.4. Determinação da Concentração Mínima Inibitória.

Na tabela 9 encontram-se os valores da concentração mínima inibitória (CMI) para as leveduras.

Tabela 9. Determinação da concentração mínima inibitória dos extratos metanólicos das plantas do manguezal frente às leveduras.

Planta	Parte da Planta	Concentração Mínima Inibitória (mg/mL)						
		<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parakrusei</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>T. beigellii</i>	<i>T. pullulans</i>
<i>Avicennia</i> amostra1	Casca	125	125	15,625	15,625	31,25	15,625	15,625
<i>Conocarpus erectus</i>	Folha	^a NT	NT	NT	NT	NT	NT	500
	Casca	125	250	250	250	62,5	62,5	15,625
<i>Laguncularia racemosa</i>	Folha	^b NI	NI	500	NI	NI	31,25	31,25
<i>Rhizophora mangle</i>	Casca	500	500	500	1000	NI	1000	NI
Cetoconazol	-	S	S	S	S	S	S	S
Fluconazol	-	S	S	S	S	S	S	S
Itraconazol	-	S	S	S	S	S	S	S

a- Não testado

b- Não houve inibição

S- Sensível

A concentração mínima inibitória para o extrato da casca de *Avicennia* amostra 1 foi de 15,625 mg/mL para *T. pullulans*, *T. beigellii*, *C. parapsilosis* e *C. parakrusei*; 31,25 mg/mL para *C. tropicalis* e 125 mg/mL para *C. albicans* e *C. glabrata*.

Esses resultados estão de acordo com o trabalho de Mahasneh (2002) no qual *C. albicans* foi à espécie mais resistente aos extratos de *A. marina*. No entanto, Benoit-Vical *et al.* (2003) estudaram a atividade antifúngica de um triterpeno isolado da raiz de *Iris germanica* (Iridaceae), *C. albicans* e *C. parapsilosis* foram as espécies mais sensíveis com concentração mínima inibitória superior a 50 µg/mL.

O extrato da casca de *C. erectus* apresentou a segunda melhor atividade, com valores de 15,625 mg/mL para *T. pullulans*; 62,5 mg/mL para *T. beigeli* e *C. tropicalis*; 125 mg/mL para *C. albicans* e 250 mg/mL para *C. glabrata*, *C. parakrusei* e *C. parapsilosis*. O teste de atividade antifúngica para as leveduras contra o extrato da folha de *C. erectus* foi realizada apenas para *T. pullulans* e a concentração mínima inibitória foi de 500 mg/mL.

A folha de *L. racemosa* obteve valores 31,25 mg/mL para *T. pullulans* e *T. beigeli* e 500 mg/mL para *C. parakrusei*.

As leveduras foram mais sensíveis ao extrato da casca de *R. mangle* no teste de determinação da concentração mínima inibitória do que em difusão em disco. Os valores foram 500 mg/mL para *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. parakrusei* e 1000 mg/mL para *T. beigeli* e *C. parapsilosis*.

Segundo Cáceres *et al.* (1993), a casca de *R. mangle* é ativa para *C. albicans*, *C. krusei* e *C. parapsilosis* apresentando uma CMI de 40 mg/mL. Em um estudo realizado por Cáceres *et al.* (1991c), o extrato etanólico da casca de *R. mangle* foi pouco ativo para *C. albicans*.

Na tabela 10 estão apresentados os resultados da concentração mínima inibitória para os fungos dermatófitos. Todas as leveduras foram sensíveis aos antifúngicos utilizados na terapêutica e testados nas concentrações recomendadas pelo NCCLS.

Tabela 10. Determinação da concentração mínima inibitória dos extratos metanólicos das plantas do manguezal frente aos dermatófitos.

Planta	Parte da Planta	Concentração Mínima Inibitória (mg/mL)			
		<i>E. floccosum</i>	<i>M. gypseum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>T. rubrum</i>
<i>Avicennia</i> amostra 1	Folha	15,625	1000	1000	1000
	Casca	15,625	250	250	125
<i>Conocarpus erectus</i>	Folha	15,625	1000	1000	250
	Casca	15,625	500	500	500
<i>Laguncularia racemosa</i>	Folha	15,625	500	250	62,5
	Casca	15,625	1000	1000	15,625
<i>Rhizophora mangle</i>	Folha	15,625	1000	1000	1000
	Casca	15,625	1000	1000	1000
Cetoconazol	-	S	S	S	S
Fluconazol	-	S	S	S	S
Itraconazol	-	S	S	S	S

S- Sensível

O extrato da casca de *Avicennia* amostra 1 foi ativo nas concentrações de 15,625 mg/mL para *E. floccosum*, 125 mg/mL para *T. rubrum* e 250 mg/mL para *T. mentagrophytes* e *M. gypseum*.

O extrato da casca de *C. erectus* foi ativo nas concentrações 15,625 mg/mL para *E. floccosum* e 500 mg/mL para *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* e *M. gypseum*. O extrato da folha mostrou atividade nas concentrações 15,625 mg/mL para *E. floccosum*, 250 mg/mL para *T. rubrum* e 1000 mg/mL para *T. mentagrophytes* e *M. gypseum*.

A casca de *L. racemosa* foi ativa nas concentrações de 15,625 mg/mL para *E. floccosum* e *T. rubrum* e de 1000 mg/mL para *T. mentagrophytes* e *M. gypseum*. O extrato da folha apresentou atividade nas concentrações de 15,625 mg/mL para *E. floccosum*, 62,5 mg/mL para *T. rubrum*; 250 mg/mL para *T. mentagrophytes* e 500 mg/mL para *M. gypseum*.

Baba-Moussa *et al.* (1999) estudaram a atividade antifúngica de sete plantas da família Combretaceae e as amostras de *Pteleopsis suberosa* e *Terminalia avicennioides* apresentaram melhor atividade, onde *T. mentagrophytes* foi o microrganismo mais sensível, seguido por *E. floccosum*, *T. rubrum* e *M. gypseum*.

Os extratos da casca e da folha de *R. mangle* foram ativos nas concentrações 15,625 mg/mL para *E. floccosum* e 1000 mg/mL para *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* e *M. gypseum*.

Cáceres *et al.* (1991b) estudaram a atividade antifúngica de plantas usadas no tratamento de doenças causadas por dermatófitos, 72% dos extratos tiveram atividade fungicida. O extrato aquoso da casca de *R. mangle* foi ativo para *T. mentagrophytes* var. *granulare*, *M. gypseum* e *M. canis*, com as CMI de 700, 600 e 500 mg/mL respectivamente.

Os extratos das plantas do manguezal isoladas no município da Ilha de Itamaracá apresentaram forte atividade contra os fungos dermatófitos, no entanto sua sensibilidade é maior do que para as leveduras. O fungo dermatófito *E. floccosum* foi à espécie mais sensível, seguido por *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* e *M. gypseum*. Esses dados estão de acordo com Cáceres *et al.* (1991c) o qual utilizaram o extrato de 100 plantas no tratamento de doenças causadas por dermatófitos, 44% foram ativas para os principais agentes de dermatomicoses. Dentre os dermatófitos *E. floccosum* (43,2%) foi o mais sensível, seguido por *T. rubrum* (36%), *T. mentagrophytes* (31,8%), *M. gypseum* (24%) e *M. canis* (22,7%).

Cáceres *et al.* (1993) observaram que o extrato da casca de *R. mangle* foi ativo para *T. rubrum* e *M. canis* com CMI de 600 mg/mL. Chattopadhyay *et al.* (2001) analisaram a atividade *Alstonia macrophylla* e verificaram que *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* e *M. gypseum* foram os mais sensíveis. Também relacionaram a

atividade antifúngica com a presença de taninos, esteróides, triterpenóides e flavonóides.

A atividade antifúngica da casca de *Avicennia*, amostra 1, pode estar associada à presença de terpenos e esteróides, e no caso da casca de *C. erectus* a presença de taninos e flavonóides.

Um estudo realizado com 88 plantas da Espanha demonstrou que os terpenos, esteróides e flavonóides eram os responsáveis pela atividade contra espécies de *Candida* (RIOS *et al.*, 1987). Por outro lado, Ahmad & Beg (2001) relacionaram a atividade antimicrobiana de plantas medicinais na Índia pela presença de compostos fenólicos e taninos.

O efeito dos taninos na atividade antimicrobiana está muito bem documentado na literatura. Fungos como *A. niger*, *Trichoderma viride*, *Botrytis cinerea* e espécies de *Penicillium* foram inibidas pelos taninos em diferentes concentrações (SCALBERT, 1991; CHUNG *et al.* 1998).

O ácido tânico inibiu o crescimento de bactérias como *E. coli*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus faecalis* e *Salmonella enteritidis*. e sua propriedade antimicrobiana está relacionada com as ligações do ácido gálico e os poliols (CHUNG *et al.* 1996)

5. CONCLUSÕES

- ∴ Os taninos representam o principal grupo químico presente nas plantas;
- ∴ *C. erectus* e *L. racemosa* apresentaram uma forte intensidade para taninos e intensidade intermediária para flavonóides;
- ∴ A casca de *Avicennia* amostra 1 é rica em terpenos e esteróides;
- ∴ Nenhuma das plantas revelaram a presença de alcalóides e saponinas;
- ∴ O extrato bruto da casca de *Avicennia* amostra 1 obteve o melhor rendimento;
- ∴ A casca de *Avicennia* amostra 1 e de *C. erectus* demonstraram melhor atividade para as leveduras no teste de difusão em disco;
- ∴ *T. pullulans* mostrou-se mais sensível no teste de difusão em disco para as leveduras;
- ∴ *C. albicans* apresentou-se mais resistente;
- ∴ Os fungos dermatófitos tiveram maior sensibilidade aos extratos das plantas do que as leveduras;
- ∴ *T. rubrum* mostrou-se mais sensível no teste de difusão em disco para os dermatófitos;
- ∴ *E. floccosum* apresentou maior sensibilidade na determinação da concentração mínima inibitória;
- ∴ A atividade antifúngica da casca de *Avicennia* amostra 1 não está associada à presença de taninos;
- ∴ As espécies estudadas, em especial a casca de *Avicennia* amostra 1 possuem substâncias com relevante potencial antifúngico.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, I. & BEG, A. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. **Journal of Ethnopharmacology**. v 74, p 113-123, 2001.

ALEXANDER, D. M.; BHAMA, N; BHIKA, K. H. *et al.* Antimicrobial testing of selected plant extracts from *Combretum* species. **South African Journal of Science**. v 88, p 342-344, 1992.

ALMAGBOUL, A. Z.; BASHIR, A. K.; SALIH, A. K. *et al.* Antimicrobial activity of certain Sudanese plants used in folkloric medicine: screening for antibacterial activity. **Fitoterapia**. v 59, p 57-62, 1988.

BABA-MOUSSA, F.; AKPAGANA, K. & BOUCHET, P. Antifungal activities of seven west African Combretaceae used in traditional medicine. **Journal of Ethnopharmacology**. v 66, p 335-338, 1999.

BARROS, H. M. B; MACEDO, S. J.; LEÇA, E. E. *et al.* **Gerenciamento Participativo de Estuários e Manguezais**. Recife: Editora Universitária da UFPE, 2000.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C. *et al.* Antibiotics susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal Clinical Pathology**. v 45, p 493-496, 1966.

BENOIT-VICAL, F.; IMBERT, C.; BONFILS, J. P. *et al.* Antiplasmodial and antifungal activities of iridal, a plant triterpenoid. **Phytochemistry**. v 62, p 747-751, 2003.

BORRIS, R. P. Natural products research: perspectives from a major pharmaceutical company. **Journal of Ethnopharmacology**. v 51, p 249-257, 1996.

BRUNA, E. P.; FERNANDES, B.; BORGES, A. C. *et al.* Effects of *Eucalyptus* litter extracts on microbial growth. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v 24, p 1523-1528, 1989.

BRUYNE, T; PIETERS, L.; DEELSTRA, H. *et al.* Condensed vegetable tannins: biodiversity in structure and biological activities. **Biochemical Systematics and Ecology**. v 27, p 445-459, 1999.

CÁCERES, A.; LÓPEZ, B.; GIRÓN, M. A. *et al.* Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. 1. screening for antimycotic activity of 44 plants extracts. **Journal of Ethnopharmacology**. v 31, p 263-276, 1991a.

CÁCERES, A.; LÓPEZ, B.; GIRÓN, M. A. *et al.* Actividad antimicótica de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de dermatofitoses. **Revista Mexicana de Micología**. v 7, p 21-38, 1991b.

CÁCERES, A.; JAUREGUI, E. & LONGEMANN, H. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal infections. 1. screening of 38 plants extracts for anticandidal activity. **Journal of Ethnopharmacology**. v 33, p 277-283, 1991c.

CÁCERES, A.; LÓPEZ, B.; JUÁREZ, X. *et al.* Plants used in Guatemala for treatment of dermatophytic infections. 2. Evaluation of antifungal activity of seven American plants. **Journal of Ethnopharmacology**. v 40, p 207-213, 1993.

CAWLEY, M. J.; BRAXTON, G. R.; HAITH, L. R. *et al.* *Trichosporon beigelli* infection: experience in a regional burn center. **Burns**. v 26, p 483-486, 2000.

CECHINEL FILHO V. Principais avanços e perspectivas na área de produtos naturais ativos: estudos desenvolvidos no NIQFAR/UNIVALI. **Química Nova**. v 23, p 680-685, 2000.

CECHINEL FILHO V. & YUNES R. A. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: Conceitos sobre modificação estrutural para otimização. **Química Nova**. v 21, p 99, 1998.

CHAPMAN, V. J. Mangrove vegetation, J. Cramer, v. 1976. In: Tomlinson, P. B. **The Botany of Mangrove**. USA: Cambridge University Press, 1986.

CHATTOPADHYAY, D.; MAITI, K.; KUNDU, A. P. *et al.* Antimicrobial activity of *Alstonia macrophylla*: a folklore of bay islands. **Journal of Ethnopharmacology**. v 77, p 49-55, 2001.

CHEN, Y. C.; CHANG, S. C.; HSIEH, W. C. *et al.* *In vitro* antifungal activity of *Candida* species isolated from the blood, **International Journal of Antimicrobial Agents**. v 7, p 217-222, 1996.

CHIOU, C. C.; GROLL, A. H. & WALSH, T. J. New drugs and novel targets for treatment of invasive fungal infections in patients with cancer. **The Oncologist**. v 5, p 120-135, 2000.

CHUNG, K. T.; WONG, T. Y.; WEI, C. I. *et al.* Implications of food tannins for human health. In: *Polyphenols Communications 96*, **18th International Conference on Polyphenols**, Bordeaux, France, v 1, p 207-208, 1996.

CHUNG, K. T.; WEI, C. I. & JOHNSON, M. G. Are tannins a double-edged sword in biology and health? **Trends in Food Science and Technology**. v 9, p 168-175, 1998.

COELHO DE SOUZA, G.; HAAS, A. P. S.; VON POSER, G. L. *et al.* Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**. v 90, p 135-143, 2004.

COELHO, P. A. & TORRES, F. A. Áreas estuarinas de Pernambuco. **Trabalhos Oceanográficos**. v 71, p 67-80, 1982.

COHEN, M. L. Epidemiology of drug resistance: implications for a postantimicrobial era. **Science**. v 257, p 1050-1055, 1992.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 2. ed., v I, II e III, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1994.

COSTA, I. P. M. W. **Fungos endofíticos isolados de vegetais do manguezal do rio Paripe, Ilha de Itamaracá, Pernambuco, Brasil**. 72 f, Dissertação de Mestrado, UFPE, 2003.

COUNCIL OF SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL RESEARCH (CSIR). **The wealth of India**. New Delhi, v 11, 1976.

DUKE, J. A. & WAIN, K. K. Medicinal plants of the world. **Index Computadorizado com mais de 85.000 espécies**. v 3, 1981.

ELOFF, J, N. Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? **Journal of Ethnopharmacology**. v 60, p 1-8, 1998.

EL-SEEDI, H. R.; OHARA, T.; SATA, N. *et al.* Antimicrobial diterpenoids from *Eupatorium glutinosum* (Asteraceae). **Journal of Ethnopharmacology**. v 81, p 293-296, 2002.

FERREA, G.; CANESSA, A.; SAMPIETRO, F. *et al.* **Antiviral Research**. v 21, p 317-325, 1993.

FUNDAÇÃO DE DESENVOLVIMENTO DA REGIÃO METROPOLITANA DO RECIFE (FIDEM). **Plano de desenvolvimento integrado de Itamaracá: Estudos Preliminares**. Recife, 1996.

GARCIA-BARRIGA, H. Flora medicinal de Colombia. **Botanica Medica**. Bogotá:Talleres Editoriales de la Imprenta Nacional, 1975.

GHOSH, A.; MISRA, S.; DUTTA, A. K. *et al.* Pentacyclic triterpenoids and sterols from seven species of mangrove. **Phytochemistry**. v 24, p 1725-1727, 1985.

HARVEY, A. L. An introduction to drugs from natural products. In: HARVEY, A. L. **Drugs from Natural Products Pharmaceuticals and Agrochemicals**. London:Ellis Horwood, p 1-6, 1993.

HARTWELL, J. L. Plants used against cancer: a survey. **Lloydia**, p 30-34,1971.

HERTZ, R. **Manguezais do Brasil**, São Paulo: Universidade de São Paulo, 1991.

HOGG, R. W. & GILLAN, F. T. Fatty acids, sterols and hydrocarbons in the leaves from eleven species of mangrove. **Phytochemistry**. v 23, p 93-97, 1984.

IRVINE, F. R. **Woody Plants of Ghana**. London: Oxford University Press, 1961.

ITOIGAWA, M.; ITO, C; TAN, H. T. W. *et al.* Cancer chemopreventive activity of naphthoquinones and their analogs from *Avicennia* plants. **Cancer Letters**. v 174, p 135-139, 2001.

KARTSONIS, N. A.; NIELSEN, J. & DOUGLAS, C. M. Caspofungin: the first in a new class of antifungal agents. **Drug Resistance Updates**. (in press), 2003.

KATERERE, D. R.; GRAY, A. I.; NASH, R. J. *et al.* Antimicrobial activity of pentacyclic triterpenes isolated from African Combretaceae. **Phytochemistry**. v 63, p 81-88, 2003.

KATHIRESAN, K. & BINGHAM, B. L. Biology of mangrove ecosystems. **Advanced in Marine Biology**. v 48, p 81-251, 2001.

KERHARO, J. **Pharmacopée Sénégalaise Traditionnelle: Plantes Médicinales et Toxiques**, Paris:Vigot Frères Edn., 1974.

KREMERY, V.; KRUPOVA, L. & DENNING, D. Invasive yeast infections others than *Candida* spp. In acute leukaemia. **Journal of Hospital Infection**. v 41, p 181-194, 1999.

KUNOVÁ, A.; SORKOVSKÁ, D.; SUFLIARSKY, J. *et al.* First reports of catheter associated *Trichosporon pullulans* breakthrough fungaemia in a cancer patient. **Journal of Infection**. v 32, p 70-71, 1996.

LACERDA, S. R. **Variação diurna e sazonal do fitoplâncton no estuário do rio Paripe, Ilha de Itamaracá, Pernambuco, Brasil**. 146 f, Dissertação de Mestrado, UFPE, 1994.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Paulo: Rima Artes e Textos, 2000.

LAW, D.; MOORE, C. B.; JOSEPH, L. A. *et al.* High incidence of antifungal drug resistance in *Candida tropicalis*. **International Journal of Antimicrobial Agents**. v 7, p 241-245, 1996.

LEMOS, T. L. G.; MONTE, F.J.Q.; MATOS, F. J. A. *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Brazilian plants. **Fitoterapia**. v 63, p 266-268, 1992.

LIST, P. H. & HORHAMMER, L. **Hager's Handbuch der Pharmazeutischen Praxis**. v 2-6, Berlin: Springer-Verlag, 1979.

LORIAN, V. **Antibioticos in Laboratory Medicine**. 2 ed., Baltimore: Williams & Wilkins, 1986.

MACNAE, W. A. A general account of fauna and flora of mangrove swamps and forest in the Indo-Pacific region. **Advanced in Marine Biology**. v 6, p 73-270, 1968.

MAHASNEH, A. M. Screening of some indigenous Qatari medicinal plants for antimicrobial activity. **Phytotherapy Research**. v 16, p 751-753, 2002.

MÁRQUEZ, B. P.; CÁRDENAS, A. O.; MORALES, C. R. *et al.* Identificación de compuestos de *Melia azedarach*, *Syzgium aromaticum* y *Cinnamomum zeylanicum* con efecto inhiibitorio sobre bacterias y hongos. **Ciência UANL**. v 6, p 333-338, 2003.

MARTINI, N. & ELOFF, J. N. The preliminary isolation of several antibacterial compounds from *Combretum erythrophyllum* (Combretaceae). **Journal of Ethnopharmacology**. v 62, p 255-263, 1998.

MELCHOR, G.; ARMENTEROS, M.; FERNÁNDEZ, O. *et al.* Antibacterial activity of *Rhizophora mangle*. **Fitoterapia**. v 72, p 689-691, 2001.

MATOS, F. J. A.; AGUIAR, L. M. B. A. & SILVA, M. G. A. Chemical constituents and antimicrobial activity of *Vatairea macrocarpa* Ducke. **Acta Amazônica**. v 18, p 351-352, 1988.

MEDEIROS, T. C. C. **Produtividade e biomassa das espécies arbóreas do manguezal do estuário do rio Paripe, Vila Velha, Itamaracá, PE**. 191 f, Dissertação de Mestrado, UFRPE, 1996.

MORETTI-BRANCHINI, M. L.; FUKUSHIMA, K.; SCHREIBER, K. N. *et al.* *Trichosporon* species infection in bone marrow transplanted patients. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**. v 39, p 161-164, 2001.

MORTON, J. F. Can the red mangrove provide food, feed, and fertilizer. **Economic Botany**. v 19, p113–123, 1965.

NASCIMENTO, S. C.; CHIAPPETA, A. & LIMA, R. M. O. C. Antimicrobial and cytotoxic activities in plants from Pernambuco, Brazil. **Fitoterapia**. v 61, p 353-355, 1990.

NASCIMENTO, G. G. F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C. *et al.* Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal Microbiology**. v 31, p 247-256, 2000.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. M27-A2**. v 22, n 15, 2002.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi. M38-P**. v 18, n 3, 2002.

NAWAZ, H. R.; MALIK, A. & ALI, M. S. Trianthenol: an antifungal tetraterpenoid from *Trianthena portucalastrum*. **Phytochemistry**. v 56, p 99-102, 2001.

ODDS, F.C. Resistance of yeasts to azole-derivative antifungals. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v 31, p 463-471, 1993.

ODDS, F.C; BROWN, A. J. P. & GOW, N. A. R. Antifungals agents: mechanisms of action. **Trends in Microbiology**. v 11, p 272-279, 2003.

OKADA, H. BE-31405, a new antifungal produced by *Penicillium minioluteum*. 1. Description of producing organism, fermentation, isolation, physico-chemical and biological properties. **Journal of Antibiotics**. v 51, p 1081-1086, 1998.

PAUW, B. E. New antifungal agents and preparations. **International Journal of Antimicrobial Agents**. v 16, p 147-150, 2000.

PERRY, L. M. **Medicinal Plants of East and Southeast Asia**. Cambridge:MIT Press, 1980.

PFALLER, M. A.; GRANT, C.; MORTHLAND, V. *et al.* Comparative evaluation of alternative methods for broth dilution susceptibility testing of fluconazole against *Candida albicans*. **Journal of Clinical Microbiology**. v 32, p 506-509, 1994.

PERERA, L. M. S; RUEDAS, D. & GÓMEZ, B. C. Gastric antiulcer effect of *Rhizophora mangle* L. **Journal of Ethnopharmacology**. v 77, p 1-3, 2001.

PORTILLO, A; VILA, R.; FREIXA, B. *et al.* Antifungal activity of Paraguayan plants used in traditional medicine. **Journal of Ethnopharmacology**. v 76, p 93-98, 2001.

RÍOS, J. L.; RECIO, M. C. & VILLAR, A. Antimicrobial activity of selected plants employed in the Spanish Mediterranean area. **Journal of Ethnopharmacology**. v 21, p 139-152, 1987.

ROIG, J. T. **Plantas Medicinales, Aromáticas y Venenosas de Cuba**. Habana: Editora Revolución y progreso, 1974.

ROIG, J. T. **Plantas Medicinales, Aromáticas y Venenosas de Cuba**. Habana: Editorial Científica Técnica, 2 ed., 1988.

SÁNCHEZ, L. M.; MELCHOR, G; ALVAREZ, S. *et al.* Caracterización química y toxicológica de una formulación cicatrizante de *Rhizophora mangle*. **Revista Salud Animal**. v 20, n 2, p 69-72, 1998.

SANTOS, M. A. C. **Crustáceos decápodos de substratos móveis do mediolitoral do estuário do rio Paripe, Itamaracá, PE**. 127 f, Tese de Doutorado, UFPE, 2001.

SANTOS, P.R.V.; OLIVEIRA, A.C.X.; TOMASSINI, T.C.B. Controle microbiológico de produtos fitoterápicos. **Revista Farmaceutica Bioquímica**. v 31, p 35-38, 1995.

SAXENA, G.; MCCUTCHEON, A. R.; FARMER, S. *et al.* Antimicrobial constituents of *Rhus glabra*. **Journal of Ethnopharmacology**. v 42, p 95-99, 1994.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**. v 30, p 3875-3883, 1991.

SCHAEFFER-NOVELI, Y. **Manguezal: ecossistema entre a terra e o mar**. São Paulo, 1995.

SCAEFFER-NOVELI, Y.; CINTRÓN-MOLERO, G.; SOARES, M. L. G. *et al.* Brazilian mangroves. **Aquatic Ecosystem Health and Management**. v 3, p 561-570, 2000.

SILVA, J. D. V. **Parâmetros oceanográficos e distribuição das espécies e bosques de mangue do estuário do rio Paripe-PE**. 98 f, Dissertação de Mestrado, UFRPE, 1995.

SILVA, M. R. R.; DE PAULA, C. R.; SILVA, S. C. *et al.* Drug reistence of yeasts isolated from oropharyngeal candidiasis in AIDS patients. **Brazilian Journal of Microbiology**, v 29, n 4, Outubro-Dezembro 1998, Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37141998000400007&ln...> Acesso em: 08/09/2002.

SOARES, M. M. S. R. & CURY, A. E. *In vitro* activity of antifungal and antiseptic agents agains dermatophyte isolates from patients with Tinea pedis. **Brazilian Journal of Microbiology** v 32, n 2, Abril-Junho 2001, Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822001000200012&ln...> Acesso em: 08/09/2002.

SOLIS, M. A. **Plantas Medicinales del Ecuador**, Quito:Abya-Ayala, 1992.

STEIN, D. K. & SUGAR, A. M. Fungal Infections in the immunocompromised host. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**. v 12, p 221-228, 1989.

TOMLINSON, P. B. **The Botany of Mangrove**. USA: Cambridge University Press, 1986.

VASCONCELOS SOBRINHO. Vegetação dos mangues da foz do Capibaribe. **Boletim da Secretaria de Agricultura, Industria e Comércio do Estado de Pernambuco**. v 3, p 316-331, 1937.

ANEXO A

MEIOS DE CULTURA

1. Meio para Manutenção

Ágar Sabouraud (SAB)

Glicose	40 g
Peptona	10 g
Ágar	15 g
Água Destilada	1000 mL

2. Meio para o Teste de Atividade Antifúngica

Solução 10X concentrada YNBD (*Yeast Nitrogen Base Dextrose*)

YNB	6,7 g
Glicose	5 g
Água Destilada	100 mL

Meio YNBD (*Yeast Nitrogen Base Dextrose*)

Solução 10X	YNB	10 mL
Água Destilada		100 mL