

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO AQUOSO DE LCEA206

CLÁUDIA BEATRIZ DE MELLO MENDES¹; JÉSSICA PAOLA SALAME²;
EDUARDA SANTOS BIERHALS³; EDUARDO GARCIA FONTOURA⁴; SAMUEL
RODRIGUES FELIX⁵; MÁRCIA DE OLIVEIRA NOBRE⁶

¹*Universidade Federal de Pelotas – claudiabeatrizmm@gmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – dassi.jessica@hotmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – dudabierhals@hotmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – eduardogfontoura@gmail.com*

⁵*Universidade Federal de Pelotas - samuelrf@gmail.com*

⁶*Universidade Federal de Pelotas – marciaonobre@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas na forma medicinal é uma prática antiga, e por serem naturais são utilizadas com a percepção de que não fazem mal (RATES, 2001, TOMAZZONI et al., 2006). Algumas ações terapêuticas relatadas das plantas com potencial medicinal são: antibacteriano e cicatrizante por exemplo, porém é necessário um estudo mais detalhado sobre essas plantas (PIERI et al., 2009 , TILLMANN, 2011).

Dentre os microrganismos causadores de infecções podemos destacar o *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* e *Escherichia coli*, ainda, para o combate dessas infecções, a utilização indiscriminada de antibióticos pode induzir resistência por parte destes microrganismos (ARIAS et al., 2008, OLIVEIRA et al., 2005, SIQUEIRA et al., 2005). A resistência bacteriana pode ser caracterizada como a eficiência que a bactéria possui em superar o mecanismo de ataque dos antimicrobianos e a transferência dessa resistência é possível ser difundida dos animais para os homens (CRUZ, 2009). Assim, há uma diminuição do potencial de ação de antibióticos, o que incentiva a busca por novos princípios com ações terapêuticas. Para classificar as bactérias como resistentes ou sensíveis frente a um composto é necessário à realização de testes como o de CIM (Concentração Inibitória Mínima) (DEL FIO et al., 2000).

Portanto o objetivo deste estudo é avaliar a atividade antimicrobiana do extrato aquoso LCEA206, através do método de difusão em ágar e do método de Concentração Inibitória Mínima, frente à *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* e *Escherichia coli*.

2. METODOLOGIA

Para a realização deste estudo foram obtidas amostras da planta LCEA206, que foram colhidas no estado do Rio Grande do Sul, conforme a disponibilidade (abundância). Um exemplar foi encaminhado ao Herbário da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), para identificação e registro. E o restante do material vegetal colhido foi encaminhado ao Laboratório de Química Orgânica – Instituto de Química/UFPel, para secagem e preparação do extrato aquoso.

Para a realização dos testes de difusão em disco e Concentração Inibitória Mínima bacteriana, os microorganismos (MO) utilizados foram *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* e *Escherichia coli*. Para a realização do teste de difusão em disco, foi utilizado um disco de papel-filtro impregnado com o extrato aquoso de LCEA206, desta mesma forma foram adquiridos discos controle contendo antimicrobianos utilizados na rotina clínica. Todos foram dispostos equidistantes

em uma placa contendo ágar, incubados por 24 horas à 36ºC para posterior leitura.

Para o teste de concentração inibitória mínima, os microorganismos utilizados foram incubados por 24 horas em meio BHI. Em um tubo de ensaio contendo solução salina, foi acrescentado alçadas do MO até a equivalência de 0,5 na escala de McFarland, e após foi retirado 200 µl da solução e acrescentado em 2,9mL de meio BHI. Os testes foram realizados em microplacas de 96 poços, onde foi marcado no poço um o controle positivo e no poço oito o controle negativo. Em todos os poços com exceção do poço número dois, foi acrescentado 100 µl de água destilada. Nos poços dois, três e oito foi adicionado 100 µl de extrato aquoso de LCEA206. Do poço nº três ao poço nº sete foi realizada a diluição seriada através do enxague e retirada de 100 µl, onde após o poço sete foi desprezado os últimos 100 µl, ou seja, cada poço ficou com 50% de concentração a menos que o anterior. Do poço nº um até o poço nº sete foi adicionado 100 µl da solução contendo (MO + salina). As microplacas foram incubadas por 24 horas a 36º C. Após o período de incubação, em placas de petri contendo ágar sangue ovino dividida em 16 pontos, foram inoculados cinco µl da solução contida em cada poço da microplaca e incubado por 24 horas, após esse período foi realizada a leitura, notando a ausência ou o crescimento, para um resultado mais preciso foram avaliados em quatro réplicas. Para considerarmos os resultados do experimento, no controle negativo não poderia ocorrer crescimento bacteriano.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o teste de inibição pelo método de difusão em ágar não foram observados as formações de halos de inibição satisfatórios para serem descritos como de ação satisfatória, porém foi possível observar a formação de halo expressivo frente à bactéria *Staphylococcus aureus*, indicando que houve inibição bacteriana, contudo, com relação às bactérias *Pseudomonas* e *Escherichia coli* não houve a formação de halo algum, não demonstrando atividade antimicrobiana do extrato nessas bactérias. Alguns autores relatam que o método mais indicado para determinar a atividade antimicrobiana é o de concentração inibitória mínima, e que o método de difusão em ágar deve ser utilizado somente como triagem para microrganismos resistentes (ALVES et al., 2008, AYRES et al., 2008).

Na avaliação da concentração inibitória mínima frente às bactérias *Pseudomonas* e *Escherichia coli* foi possível observar que o extrato não apresentou atividade antimicrobiana em nenhuma das concentrações testadas, sobre a bactéria *Staphylococcus aureus* foi observado que o extrato na concentração de 50% apresentou inibição bacteriana, nas demais concentrações não foi observado atividade antimicrobiana. MICHELIN et al. (2005) demonstraram o efeito antimicrobiano de alguns extratos frente a bactérias como a *Staphylococcus aureus* nos testes de difusão em ágar e de concentração inibitória mínima. O teste de CIM tem sido utilizado frequentemente, pois ele possui uma alta sensibilidade, além da possibilidade de se obter um maior número de réplicas, tornando os resultados mais confiáveis (OSTROSKY et al., 2008).

Estudos também relatam a atividade antimicrobiana de algumas plantas, SILVA et al. (2008) sugerem que o extrato hidroalcoólico de *Rosmarinus officinalis* Linn possui atividade antimicrobiana sobre bactérias orais planctônicas. ZIECH et al. (2013) relatam a atividade antimicrobiana da seiva de copaíba (*Copaíba reticulata*) dissolvida em óleo frente a *Staphylococcus coagulase-*

positivo multirresistentes isolados de otite externa canina. O extrato etanólico a partir das folhas de *Qualea grandiflora* Mart. sobre o crescimento microbiano, apresenta atividade inibitória moderada, sobre algumas espécies de bactérias, conforme relatado por AYRES et al. (2008).

Com a ampla biodiversidade de plantas brasileiras, há uma necessidade na busca de suas ações farmacológicas, para que o seu uso não seja errôneo, e não ocorram reações adversas (GIULIETTI et al., 2005; MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL, 2006, RATES, 2001). Por isso é indicado à realização de testes específicos para a confirmação das ações terapêuticas das plantas com potencial farmacológico, e para poder explorar os diversos biomas brasileiros. A LCEA206 é uma planta ainda com poucos estudos e grandes potenciais, os quais devem ser melhor explorados.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se com este estudo que o extrato aquoso de LCEA206 não apresentou atividade antimicrobiana, através do método de difusão em ágar e do método de concentração inibitória mínima bacteriana, sobre as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* e *Escherichia coli*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, E.G., VINHOLIS, A.H.C., CASEMIRO, L.A., JACOMETTI, N.A., FURTADO, C., ANDRADE E SILVA, M.L., CUNHA, W.R., MARTINS, C.H.G. Estudo comparativo de técnicas de screening para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1224-1229, 2008.
- ARIAS, M.V.B., BATTAGLIA, L.A., AIELLO, G, CARVALHO, T.T., FREITAS, J.C. Identificação da suscetibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de cães e gatos com feridas traumáticas contaminadas e infectadas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 861-874, 2008.
- AYRES, M.C.C., BRANDÃO, M., VIEIRA-JÚNIOR, G.M., MENOR, J.C.A.S., SILVA, H.B., SOARES, M.J.S., CHAVES, M.H. Atividade antibacteriana de plantas úteis e constituintes químicos da raiz de *Copernicia prunifera*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 18, n. 1, p. 90-97, 2008.
- DEL FIO, F.S, FILHO, T.R.M., GROPPO, F.C. Resistência Bacteriana. **Revista Brasileira de Medicina**, Rio de Janeiro, v. 57, n.10, p. 1129-1140, 2000.
- GIULIETTI, A.M., HARLEY, R. M., QUEIROZ, L. P., WANDERLEY, M. G. L., BERG, C.V.D. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, n.1, p 52 -61, 2005.
- MICHELIN, D.C., MORESCHI, P.E., LIMA, A.C., NASCIMENTO, G.G.F., PAGANELLI, M.O., CHAUD, M.V. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 15, n. 4, p. 316-320, 2005.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE CIÊNCIAS, TECNOLOGIA E INSUMOS ESTRATÉGICOS. A fitoterapia no SUS e o programa de pesquisas de plantas medicinais da Central de Medicamentos. Brasília, DF, 2006.
- OLIVEIRA, L.C., MEDEIROS, C.M.O., SILVA, I.N.G., MONTEIRO, A.J., LEITE, C.A.L., CARVALHO, C.B.M. Susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas de otite externa em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Fortaleza, v. 57, n.3, p.405-408, 2005.

- OSTROSKY, E.A., MIZUMOTO, M.K., LIMA, M.E.L., KANEKO, T.M., NISHIKAWA, S.O., FREITAS, B.R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.
- PIERI, F.A., MUSSI, M.C., MOREIRA, M.A.S. Óleo de copaíba (*Copaifera sp.*): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.11, n.4, p.465-472, 2009.
- RATES, S.M.K. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.11, n.2, p. 57-69, 2001.
- SILVA, M.S.A., SILVA, M.A.R., HIGINO, J.S., PEREIRA, M.S.V., CARVALHO, A.A.T. Atividade antimicrobiana e antiaderente in vitro do extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn. sobre bactérias orais planctônicas. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** v. 18, n. 2, p. 236-240, 2008.
- SIQUEIRA, A.K., RIBEIRO, M.G., SALERNO, T., TAKAHIRA, R.K., LOPES, M.D., PRESTES, N.C., SILVA, A.V. Perfil de sensibilidade e multirresistência em linhagens de *Escherichia coli* isoladas de infecção do trato urinário, de piometra e de fezes de cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 5, p.1263-1266, 2008.
- TILLMANN, M.T. **Anti-sépticos e Fitoterápico na cicatrização de feridas.** 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências - área do conhecimento: Sanidade Animal) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.
- TOMAZZONI, M. I., NEGRELLE, R.R. B, CENTA, M.L. fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto Contexto Enfermagem**, Florianópolis. V.15, n.1, p.115-121, 2006.
- ZIECH, R.E., FARIA, L.D., BALZAN, C., ZIECH, M.F., HEINZMANN, B.M., LAMEIRA, O.A., VARGAS, A.C. Atividade antimicrobiana do oleoresina de copaíba (*Copaifera reticulata*) frente a *Staphylococcus coagulase positiva* isolados de casos de otite em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** v. 33, n. 7, p. 909-913, 2013.