

AÇÃO ANTIBACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE PIMENTA-ROSA (*SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS*) SOBRE ISOLADOS CLÍNICOS RESISTENTES

CLAUDIA GIODARNI¹; KARINA AFFEDLT GUTERRES ²; CAROLINE BOHNEN DE MATOS³; CRISTINE CIOATO DA SILVA ⁴; SÍLVIA REGINA LEAL LADEIRA⁵; MARLETE BRUM CLEFF⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – claarte@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – guterres.karina@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – bohnencarol@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – criscioato@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – s.ladeira@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – emebrum@bol.com.br

1. INTRODUÇÃO

O uso das plantas medicinais é uma prática milenar, e mesmo se tendo expressivos avanços científicos na área, estas ainda são muito utilizadas conforme a medicina popular (ALVIM et al. 2006). O uso de plantas ganha espaço tanto para tratamentos em humanos como nos animais, devido ao consumidor almejar produtos ecologicamente corretos, sem resíduos químicos e também na busca por menores custos no tratamento, colaborando desta forma com aspectos econômicos e sociais (OLIVEIRA et al. 2009; ALBUQUERQUE & HANAZAKI, 2006).

No âmbito da pesquisa, a busca por novos princípios bioativos tem caráter relevante no combate a microrganismos patogênicos resistentes (CHENICHEL FILHO et al. 1998; BARBOSA-FILHO et al., 2007). A seleção de microrganismos resistentes aos antimicrobianos vem se destacando como um problema em saúde pública, onde a velocidade de disseminação dos genes de resistência é maior que a produção de novos fármacos (ARAÚJO et al. 2009).

A aroeira mansa (*Schinus terebinthifolius* Raddi) é uma árvore nativa do Brasil pertencente a família Anacardiaceae, sendo os frutos (pimenta-rosa) consumidos pela população a nível nacional e internacional como condimento alimentar (LENZI & ORTH, 2004). Além disso, tem sido relatada diversas atividades medicinais para a planta, como antibacteriana, antifúngica, antialérgica, anti-inflamatória e antioxidante (CARVALHO et al. 2013). Diante do exposto, e devido a espécie possuir uma boa distribuição em Pelotas-RS, abre-se um grande potencial de investigação sobre a ação antibacteriana dos extratos vegetais, assim o objetivo do trabalho foi de avaliar o óleo essencial dos frutos de pimenta-rosa (*Schinus terebinthifolius*) sobre isolados clínicos bacterianos de cães e cepas padrões ATCC.

2. METODOLOGIA

Inicialmente foi realizada a identificação botânica da planta no Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Os frutos maduros de pimenta-rosa foram coletados em abril de 2014 no campus universitário Capão do Leão - UFPel e encaminhados ao Laboratório de Produtos Naturais no Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos - UFPel, onde foram secos em estufa de circulação de ar. Posteriormente foi feita a extração do óleo essencial por hidrodestilação em Clevenger (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1988).

As bactérias utilizadas no estudo foram isoladas de casos clínicos de lesões cutâneas de cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Pelotas, e cepas padrões (FIOCRUZ). As bactérias foram identificadas e estocadas no Laboratório de Bacteriologia - UFPel, onde também foram realizados os antibiogramas (BAUER et al. 1966) com antibióticos usados na rotina da clínica médica veterinária: ampicilina (10 mcg), amoxicilina (30 mcg), cefalexina (30 mcg), ceftriaxona (30 mcg), enrofloxacin (5 mcg), neomicina (30 mcg), oxacilina (1 mcg) e penicilina G (10 un).

O teste de suscetibilidade *in vitro* das bactérias frente aos extratos foi realizado através da metodologia de microdiluição em caldo, conforme o documento M7A9 (2012) do CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), com modificações para fitofármacos. Foram testadas concentrações seriadas do óleo essencial de pimenta-rosa (250 a 0,45 µg/mL), partindo de uma solução mãe de 50% (preparada com água destilada e Tween 1%).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os antibiogramas demonstraram um perfil de resistência diferente entre as bactérias isoladas de cães (n=7) e cepas padrões (n=5) (Tabela 1). A partir dos resultados, podemos observar que as bactérias isoladas dos casos clínicos apresentaram maior resistência aos antibióticos testados quando comparada as cepas padrões ATCC. Isso pode ser explicado pelo desenvolvimento de resistência antimicrobiana pelas bactérias ao longo do tempo, devido a seleção natural e também pelo uso indiscriminado dos antibióticos, principalmente no meio veterinário, onde ainda hoje não existe um controle adequado na venda destes medicamentos. Isso reflete em um problema de saúde pública, relacionado a resistência cruzada dos antibióticos veterinários e humanos, devido a muitos pertencerem às mesmas classes de antimicrobianos (KORB et al. 2011).

Nesse aspecto de resistência antimicrobiana, surge como possível alternativa os produtos oriundos das plantas, como os extratos, óleos essenciais e até mesmo compostos bioativos isolados, devido a apresentarem mecanismos de ação diferenciados e estruturas desconhecidas pelos microrganismos (SILVEIRA et al. 2009).

Os resultados *in vitro* da atividade antibacteriana do óleo essencial de pimenta-rosa (OEPR) demonstram que nos isolados clínicos houve CIM (Concentração Inibitória Mínima) de 250 µg/mL, onde duas bactérias não foram inibidas e apenas uma eliminada com CBM (Concentração Bactericida Mínima) de 250 µg/mL (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados do teste de microdiluição em caldo do óleo essencial de pimenta-rosa e antibiograma sobre isolados clínicos e cepas padrões

Espécies bacterianas	Óleo essencial		Resistência aos antibióticos
	CIM µg/mL	CBM µg/mL	
<i>Enterococcus faecalis</i>	250	250	CEF, CEX, NEO, OXA, PEN
<i>Enterococcus faecalis</i>	250	>250	CEF, CEX, NEO, OXA, ENR, PEN
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299	125	125	CEF, CEX, NEO, OXA
<i>Streptococcus agalactiae</i>	>250	>250	AMP, CEX, NEO
<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC 13813	31,2	>250	NEO
<i>Staphylococcus aureus</i>	250	>250	AMP, AMO, PEN
<i>Staphylococcus aureus</i>	250	>250	AMP, AMO, PEN
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	250	>250	-

<i>Proteus vulgaris</i>	250	>250	AMP, AMO, CEF, OXA, PEN
<i>Proteus vulgaris</i> CCUG 10784	250	>250	AMP, OXA
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>250	>250	AMP, AMO, CEF, CEX, OXA, PEN
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	>250	>250	AMP, AMO, CEF, OXA, PEN

*CIM: Concentração inibitória mínima, CBM: Concentração bactericida mínima, >250: sem atividade; ATCC E CCUG: Cepas padrões; AMO: amoxicilina, AMP: ampicilina, CEF: cefalexina, CEX: ceftriaxona, NEO: neomicina, ENR: enrofloxacin, OXA: oxacilina, PEN: penicilina.

Na comparação dos isolados clínicos e cepas padrões, houve uma variação nos resultados, de duas espécies bacterianas (*Enterococcus faecalis* e *Streptococcus agalactiae*) onde a CIM e CBM do OEPR foram menores nas cepas padrões, podendo indicar resistência dos isolados clínicos também sobre óleo essencial, necessitando concentrações mais altas para ação antibacteriana. Em outro estudo, utilizando os óleos essenciais de *Coriandrum sativum*, *Ocimum basilicum*, *Origanum majorana* e *Rosmarinus officinalis* foi avaliada a ação antibacteriana sobre diferentes cepas de *Acinetobacter* spp. provenientes de ambiente hospitalar, onde alguns isolados necessitaram concentrações maiores para inibição, além da multirresistência aos antibióticos (GUERRA et al. 2012).

Um resultado interessante do OEPR é a inibição do *Staphylococcus aureus* (n=3), uma bactéria associada a infecções hospitalares e responsável por várias enfermidades, com casos de resistência antimicrobiana na medicina humana e na veterinária (GELATTI et al. 2009; FREITAS et al. 2013). Além disso, o *S. aureus* pode colonizar pele e mucosas de cães e gatos, assintomaticamente e infectar seres humanos imunossuprimidos ou muito jovens que mantenham contato direto com estes animais, sendo uma problemática de saúde pública (FREITAS et al. 2013).

FACCIN et al. (2013), utilizando o óleo essencial de pimenta vermelha sobre bactérias isoladas do leite proveniente de ordenha, sendo elas *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* spp. coagulase positiva e negativa, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae* e *S. uberis*, demonstrou atividade do óleo essencial do fruto maduro nas concentrações bactericidas de 10% a 5%. Em nosso estudo, as bactérias testadas apresentaram concentrações inibitórias entre 31,2 a 250 µg/mL, e apenas duas com concentração bactericida de 125 e 250 µg/mL. Isso pode ser explicado pela obtenção de isolados bacterianos de espécies animais e diferentes origens da amostra, assim como fatores ligados ao vegetal, como desenvolvimento da planta, estação do ano, adubação, entre outros fatores intrínsecos e extrínsecos da planta (SALAMON, 1994; GREATTI et al. 2014). Além disso, a parte vegetal e metodologia de extração também podem interferir na presença ou concentração dos compostos bioativos, como demonstrado por GREATTI et al. (2014), onde o óleo essencial da folha e casca de *Schinus terebinthifolius* não apresentou ação sobre as bactérias testadas (GREATTI et al. 2014).

4. CONCLUSÕES

O óleo essencial de pimenta-rosa apresentou atividade inibitória na maioria das bactérias, inclusive nos isolados resistentes aos antibióticos. De acordo com o trabalho nota-se a presença de isolados caninos multirresistentes aos antimicrobianos, fator preocupante pela capacidade das bactérias serem reservatório de genes resistentes e transmiti-los.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, U.P.; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, supl., p.678-89, 2006.
- ALVIM, N.A.T. et al. O uso de plantas medicinais como recurso terapêutico: das influências da formação profissional às implicações éticas e legais de sua aplicabilidade como extensão da prática de cuidar realizada pela enfermeira. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v.14, n.3, 2006.
- ARAÚJO et al. Perfil de DNA plasmidial em bactérias resistentes a antibióticos isoladas do Ribeirão Paciência – Pará de Minas – MG. **SynThesis Revista Digital FAPAM**, n.1, 2009.
- BARBOSA-FILHO, J.M. et al. Natural products with antileprotic activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.1, p.141-8, 2007.
- BAUER, A.W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.36, p.493-496, 1966.
- CARVALHO, M.G. et al. *Schinus terebinthifolius* Raddi: chemical composition, biological properties and toxicity. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.15, n.1, p.158-169, 2013.
- CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R.A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: Conceitos sobre modificação estrutural para a otimização da atividade. **Química Nova**, v.21, p.99-105, 1998.
- CLSI – Clinical and Laboratory Standard Institute. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically M07-A9**; Approved Standard - Ninth Edition, 2012.
- FACCIN, A. et al. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROECOLOGIA**, Porto Alegre, 2013. Cadernos de agroecologia, VIII Congresso Brasileiro de Agroecologia, Porto Alegre, v.8, n.2, p.1-5, 2013.
- FREITAS, A. B. et al. *Staphylococcus aureus* resistentes em animais de companhia. **Revista Eletrônica Novo Enfoque**, v.16, n.16, p.95-101, 2013.
- GELLATI, L.C. et al. *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.84, n.5, p.501-506, 2009.
- GREATTI, V.R. et al. avaliação da atividade antibacteriana “in vitro” da aroeira (*Schinus terebinthifolius*) e da canela (*Cinnamomum zeylanicum*) frente a linhagens Gram positivas e Gram negativas. **Salusvita**, v.33, n.3, p.345-354, 2014.
- GUERRA, F.Q.S. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre cepas de *Acinetobacter* spp. multidrogas-resistentes. **Biofar**, v.7, n.1, 2012.
- KORB, A. et al. riscos para a saúde humana do uso de antibióticos na cadeia produtiva leiteira. **Revista de Saúde Pública de Santa Catarina**, v.4, n.1, 2011.
- OLIVEIRA, L.S.T. et al. Uso de plantas medicinais no tratamento de animais. **Centro Científico Conhecer – Enciclopédia Biosfera**, v.5, n.8, 2009.
- República Federativa do Brasil. **Farmacopéia Brasileira**. Atheneu, São Paulo, Parte I, 1988.
- SALAMON, I. Changes in quantitative-qualitative composition of chamomile essential oil during the three harvests of a year. **Herba Polonica**, v.11, n.1-2, p.17-25, 1994.
- SILVEIRA, L.M.S. et al. Metodologias de atividade antimicrobiana aplicadas a extratos de plantas: comparação entre duas técnicas de ágar difusão. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.90, n.2, p.124-128, 2009.