

POTENCIAL DE AÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE LCEA206 JUNTO A FÁRMACOS ANTIMICROBIANOS FRENTE A CEPAS BACTERIANAS

EDUARDA SANTOS BIERHALS¹; EDUARDO GARCIA FONTOURA²; SILVIA REGINA LEAL LADEIRA³; MÁRCIA DE OLIVEIRA NOBRE⁴

¹Universidade Federal de Pelotas – dudabierhals@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - eduardogfontoura@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – s.ladeira@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – marciaonobre@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Relatos da utilização de fitoterápicos descrevem seu uso no tratamento de enfermidades há milhares de anos (DUARTE et al., 2004). Já os antimicrobianos são mais modernos, e utilizados para o combate de bactérias patogênicas (VIANA, 2014). Conforme NASCIMENTO et al. (2000), a apresentação de resistência a antimicrobianos transformou seu uso no futuro algo ainda incerto, pois são frequentes os relatos de bactérias que costumavam ser sensíveis e se tornaram resistentes a fármacos disponíveis no mercado (SAKAGAMI & KAJAMURA, 2006). A utilização de fitoterápicos vem se demonstrando uma alternativa viável para esta problemática (ANVISA, 2014; SILVA, 2010; BOTSRAS, 2012). Entretanto, seu emprego sem conhecimento técnico, pode vir a não ser eficaz ou gerar danos à saúde (SCHELZ, 2006; SILVA, 2010).

A otite externa é uma enfermidade de elevada casuística na clínica veterinária de pequenos animais, acomete cães e gatos e pode ser desencadeada por infecções parasitárias, fúngicas e bacterianas (HARVEY et al., 2004). Conforme relatado por OLIVEIRA et al. (2006) ao avaliar casos clínicos de otite externa, dentre os microrganismos mais encontrados nestas situações estão *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* e *Pseudomonas aeruginosa*. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi determinar se o extrato aquoso de LCEA206 possui efeito sinérgico ou antagônico junto a fármacos antimicrobianos comerciais utilizados para o tratamento da otite externa.

2. METODOLOGIA

O extrato da planta utilizada neste experimento foi denominado LCEA206 para fins de proteção de uma potencial patente. Tal planta foi coletada na zona rural de Santana da Boa Vista e encaminhada ao Herbário da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) para catalogação. Algumas amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Oleoquímica e Biodiesel do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de alimentos da UFPel para a confecção do extrato aquoso conforme a técnica de extração por esgotamento. As cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* e *Pseudomonas aeruginosa* foram isoladas de cães acometidos naturalmente com otite externa e semeadas em meio de ágar-sangue no Laboratório Regional de Diagnósticos da UFPel.

Para a realização do teste de suscetibilidade aos antimicrobianos, foi realizada a metodologia descrita por Kirby & Bauer (NCCLS, 2003). Placas contendo o meio BHI (Brain Heart Infusion) foram semeadas, cada uma com uma cepa bacteriana. E,

para o antibiograma, foram utilizados discos comerciais de enrofloxacina (5 µg), gentamicina (10 µg), neomicina (30 µg), sulfonamida (300 µg) e tobramicina (10 µg). Além de que em todas as placas foi incluso um disco estéril impregnado com 10µL do extrato de LCEA206.

As placas foram separadas em grupo controle (contendo somente antibiótico), e grupo tratamento (contendo antibiótico mais 10µL do extrato aquoso de LCEA206). Ao término, as placas foram incubadas por 24h, a 36°C, onde posteriormente foi realizada a leitura dos halos de inibição. Os experimentos foram realizados em duplicata para a obtenção de resultados fidedignos, e para a análise dos resultados foi realizada média aritmética dos valores observados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo pode-se observar que, em sua maioria, os discos contendo antibiótico e extrato aquoso obtiveram seus halos de inibição bacteriana maiores do que os halos formados pelos discos contendo somente antibióticos. O tratamento feito com neomicina e o extrato frente à *P. aeruginosa* foi o que apresentou maior relevância, pois o halo teve um crescimento de 7,5mm. Já a mesma cepa frente à gentamicina apresentou redução de halo em 0,5mm quando comparada ao controle, confirmando leve antagonismo entre ambos.

Segundo ZAFALON et al. (2008), as cepas de *S. aureus* apresentaram resistência elevada às penicilinas e também à sulfonamida, de acordo com o que foi encontrado nesse estudo. Já SILVA et al. (2001), que utilizou cepas bacterianas isoladas somente da casuística de otite externa crônica, afirmou que enrofloxacina, gentamicina e neomicina foram os antimicrobianos mais efetivos, além de ir de acordo com os outros estudos que frente a esses microrganismos a penicilina G é o antimicrobiano que apresenta maior resistência, o que levou a não escolha desse fármaco no estudo.

Tabela 1. Valores das médias para o controle (C) e para tratamentos (T), frente às cepas bacterianas descritas.

Antimicrobianos	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Staphylococcus intermedius</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	C	T	C	T	C	T
Neomicina	24,0	27,5	26,5	28,0	22,5	30,0
Tobramicina	25,5	26,0	28,0	29,0	30,5	31,0
Sulfonamida	0,0	0,0	0,0	0,0	23,5	24,0
Gentamicina	25,0	26,0	27,5	28,0	29,5	29,0
Enrofloxacina	29,0	31,0	30,5	33,0	22,5	23,5

A Tabela 1 apresenta os valores das médias encontrados para cada análise realizada, comparando os valores obtidos nos antibiogramas entre controle e tratamento (fármaco antimicrobiano mais extrato aquoso de LCEA206). Os discos estéreis impregnados somente com o extrato de LCEA206 não apresentaram crescimento de halo relevante, portanto seus valores não foram incluídos na tabela. Com exceção das cepas de *S. aureus* e *S. intermedius* que se apresentaram

resistentes à sulfonamida, todas as cepas mostraram-se sensíveis aos antimicrobianos comerciais testados.

Em outros estudos semelhantes a este (RODRIGUES, 2013; ASOLINI, 2006) se pode notar resultados de maior relevância, porém isso pode ser atribuído ao fato de os extratos se apresentarem de maneira etanólica ou óleo essencial, e não aquosa como neste caso. RODRIGUES, et al. (2013) utilizou o óleo essencial de copaíba e ressaltou atividade bactericida em concentrações superiores a 25% frente a grupos de *Staphylococcus*, já ASOLINI et al. (2006) relata que os compostos fenólicos no extrato etanólico de camomila foram responsáveis por propriedades antimicrobianas frente à *S. aureus*. Estes dados colaboram no intuito de a LCEA206 de visar estudos futuros utilizando-a como outros tipos de extratos.

Na casuística de otite externa se faz a utilização de antimicrobianos tópicos no conduto auditivo dos animais. Esse fator pode auxiliar no aumento dos casos de resistência bacteriana, uma vez em que uso indiscriminado se torna mais fácil (HARVEY et al. 2014). Não só a LCEA206, mas também outras plantas cultivadas no país, tem como grande vantagem ser de fácil obtenção, baixo custo e, quando estudadas, oferecem menores riscos à saúde. O potencial de cada uma deve ser explorado visando a saúde de pacientes (ANVISA, 2014; BOTSARIS, 2012), além de buscar medidas terapêuticas mais eficazes no controle de infecções por microrganismos.

4. CONCLUSÕES

Com este estudo demonstramos que o extrato aquoso de LCEA206 possui características para um potencial efeito sinérgico junto aos antimicrobianos neomicina, tobramicina, sulfonamida, gentamicina e enrofloxacina frente às cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* e *Pseudomonas aeruginosa*, com exceção de gentamicina frente à *P. aeruginosa*, quando pode-se observar um leve antagonismo entre ambos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DUARTE, M.C.T., FIGUEIRA, G.M., PEREIRA, B., MAGALHÃES, P.M., DELARMELINA, C. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de espécies da coleção de plantas medicinais. CPQBA/UNICAMP. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.14, supl.1, p. 6-8. 2004.

VIANA, F.A.B. **Guia Terapêutico Veterinário**. Belo Horizonte: Pharmabooks, 2014. 3v.

NASCIMENTO, G.G.F., LOCATELLI, J., FREITAS, P.C., SILVA, G.L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Sociedade Brasileira de Microbiologia**, v.31, n.4, p. 247-256, 2000.

SAKAGAMI, Y., KAJAMURA, K. Bactericidal activities of disinfectants against vancomycin-resistant enterococci. **Journal of Hospital Infection**, v.50, n.2, p.140-144, 2002.

ANVISA. **Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico**. Brasília, DF, 2014.

SILVA, N.C.C. **Estudo comparativo da ação antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais e sinergismo com drogas**. 2010. 75f.

Dissertação (Mestrado em Biologia de parasitas e microrganismos) - Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Universidade Estadual Paulista.

BOTSARIS, A.S. **Fitoterapia Chinesa e Plantas Brasileiras**. São Paulo: Ícone, 2012. 4v.

SCHELZ, Z., MOLNAR, J., HOHMANN, J. Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. **Fitoterapia**, v. 77, p. 279-285, 2006.

SILVA, N. Identificação e suscetibilidade a antimicrobianos de *Staphylococcus spp.* isolados de cães com otite externa crônica. **Arq. Bras. Med. Zootec**, Belo Horizonte, v. 53, n.2, p.1-5, 2001. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010209352001000200001&lng=en&nrm=iso>. Acessado em 14 jul 2016.

HARVEY, R.G.; HARARI, J.; DELAUCHE , A. J. **Doenças do Ouvido em Cães e Gatos**. Rio de Janeiro: Revinter, 272p, 2004.

OLIVEIRA, E. C. P.; LAMEIRA, O.A.; ZOGHBI, M.G.B. Identificação da época de coletado óleo-resina de copaíba (*Copaifera spp.*) no município de Moju-PA. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 8, n. 3, p. 14-23, 2006.

NCCLS. **Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão** — Oitava Edição, v. 23, n. 1, p. 58, 2003.

ZAFALON, L.F., ARCARO, J.R.P., NADER FILHO, A., FERREIRA, L.M., CASTELANI, L., BENVENUTTO, F. Investigação de perfis de resistência aos antimicrobianos em *Staphylococcus aureus* isolados na ordenha de vacas em lactação. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.67, n.2, p.118-125, 2008.

RODRIGUES, F.G., KOZERSKI, N.D., GAZIM, Z.C., GONÇALVES, D.D., MARTINS, L.A. Atividade bactericida da *Copaifera sp.* frente a *Staphylococcus spp.* isolados de mastite bovina. **Enciclopédia biosfera**, centro científico conhecer, v.9, n.17, p.293-302, 2013.

ASOLINI, F.C., TEDESCO, A.M., CARPES, S.T., FERRAZ, C., FERRAZ, S.M. Atividade Antioxidante e Antibacteriana de extratos de plantas usados como chás. **Brazilian Journal Food Technology**, v.9, p. 209-215, 2006.