

Avaliação de atividade antimicrobiana do extrato de *Daphnopsis racemosa* Griseb

LUANE PINHEIRO GARCIA¹; MATHEUS PEREIRA DE ALBUQUERQUE²; VITOR PEREIRA KLEIN²; JANICE LUEHRING GIONGO²; RODRIGO DE ALMEIDA VAUCHER³

¹Laboratório de Pesquisa em Bioquímica e Biologia Molecular de Micro-organismos (LaPeBBioM)- Universidade Federal de Pelotas – luanegarcia25@hotmail.com

²Laboratório de Pesquisa em Bioquímica e Biologia Molecular de Micro-organismos (LaPeBBioM)- Universidade Federal de Pelotas – matheusalbuquerque813@gmail.com

²Laboratório de Pesquisa em Bioquímica e Biologia Molecular de Micro-organismos (LaPeBBioM)- Universidade Federal de Pelotas – vitorpereiraklein17@gmail.com

²Laboratório de Pesquisa em Bioquímica e Biologia Molecular de Micro-organismos (LaPeBBioM)- Universidade Federal de Pelotas – janicegiongo@hotmail.com

³Laboratório de Pesquisa em Bioquímica e Biologia Molecular de Micro-organismos (LaPeBBioM)- Universidade Federal de Pelotas – rodvaucher@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A pesquisa por novos agentes antimicrobianos tornou-se essencial diante do crescente surgimento de microrganismos resistentes e infecções oportunistas (OSTROSKY et al., 2008). Bactérias como a *Staphylococcus aureus*, conhecidas por causar uma variedade de infecções, e a *Enterococcus faecalis*, que está associada a infecções urinárias, do trato biliar, entre outras condições (Nacif; Alves, 2010), são um exemplo desses microrganismos.

O uso de plantas medicinais é difundido culturalmente no Brasil e com isso, a busca por novas abordagens terapêuticas é aliada com a intensificação de pesquisas que visam a possível aplicação destas no âmbito farmacêutico (PEDROSO et al. 2021). Estudos mais detalhados sobre plantas medicinais e seus compostos bioativos se tornam cruciais na busca inicial por novas alternativas eficazes contra microrganismos resistentes (SILVA, et al., 2021)

As plantas da família *Thymelaeaceae* são conhecidas por seus princípios ativos, incluindo os derivados daphne (Marmouzi, et al., 2021). Esses compostos têm demonstrado uma variedade de atividades biológicas, em especial antimicrobiana, antiinflamatória e antitumoral. No entanto, algumas espécies como as do gênero *Daphnopsis*, são conhecidas por conter alcaloides tóxicos (Marmouzi et al., 2021).

Nesse estudo, será utilizado a *Daphnopsis racemosa* Griseb, conhecida popularmente como embira, imbirá ou embira-branca. Possui uma casca fibrosa e resistente podendo ser utilizada como corda. Além disso, seu extrato aquoso tem sido estudado pelos seus efeitos bactericida, anti-helmíntico na medicina veterinária (BAUMHARDT, et al., 2018).

Diante da constante busca por novas alternativas, o objetivo deste estudo é avaliar o potencial antimicrobiano do extrato aquoso de *Daphnopsis racemosa* Griseb frente às bactérias *S. aureus* e *E. faecalis*.

2. METODOLOGIA

Para este estudo, foi obtido o extrato aquoso da planta *Daphnopsis racemosa* Griseb. O procedimento para avaliação antimicrobiana seguiu o

protocolo recomendado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), especificamente o protocolo CLSI M27-A3 (2008).

Esse protocolo consiste na determinação da concentração inibitória mínima (CIM) que indica a menor concentração de um antimicrobiano que inibe visivelmente o crescimento de um microorganismo após um período específico de incubação, os poços que apresentaram turbidez indicavam crescimento bacteriano, sendo a CIM a menor concentração anterior ao crescimento bacteriano onde não há turbidez do meio.

Com base na CIM, é possível determinar a concentração bactericida mínima (CBM), a qual indica se o composto é bactericida ou bacteriostático, compostos bactericidas são aqueles que matam completamente o microorganismo enquanto os bacteriostáticos apenas inibem o crescimento.

Para a realização dos seguintes testes, primeiramente foram preparados os inóculos com as cepas *S. aureus* ATCC 1026 e *E. faecalis* ATCC 51299 utilizando o método da turbidez ajustada, como o padrão de 0,5 McFarland. Ambas cepas são provenientes da bacterioteca do Laboratório de Pesquisa em Bioquímica e Biologia Molecular de Microorganismos (LaPeBBioM).

Para a CIM foi aplicado o método de microdiluição, então, uma concentração inicial de 200µL do composto foi adicionada nos poços, sendo realizada 11 diluições seriadas ao decorrer da placa mantendo um volume final de 200µL em cada poço, adicionando 10µL do inóculo nos poços C1 e D1, contendo *S.aureus* e E1 e F1, contendo *E. faecalis*, tendo como controle positivo os poços da coluna 11, contendo 200µL de meio de crescimento e 10µL de inóculo, e como controle negativo os poços da coluna 12, contendo apenas 200 µL de meio de crescimento. Após incubação em estufa a 37° por 24h a CIM foi determinada com base na turbidez observada nos poços.

Para realização da CBM, as concentrações da CIM, 2X CIM (poço anterior a CIM), 1/2 CIM (poço posterior a CIM) foram semeadas em placas contendo ágar Mueller-Hinton e levadas a incubação seguindo os mesmos critérios já definidos, a CBM é definida como a concentração onde não há nenhum crescimento bacteriano. Todos os experimentos foram conduzidos em duplicata, garantindo maior confiabilidade nos resultados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da atividade antimicrobiana do extrato aquoso da *Daphnopsis racemosa* Griseb podem ser observados na tabela abaixo.

Tabela 1. Atividade antimicrobiana extrato aquoso da *Daphnopsis racemosa* Griseb em µg/µL.

Cepa	CIM	CBM
<i>S. aureus</i> ATCC 501026		-
<i>E. faecalis</i> ATCC 51299	50	100

O extrato testado apresentou uma atividade inibitória significativa contra a cepa *S. aureus* ATCC 1026, com uma concentração mínima inibitória (CIM) de 50 µg/µL. Isso significa que, nessa quantidade, o crescimento da bactéria foi interrompido. No entanto, não houve efeito bactericida, ou seja, o extrato não foi capaz de matar a bactéria nessa condição. Por outro lado, para a cepa *E. faecalis* ATCC 51299, o extrato também mostrou a capacidade de inibir o crescimento bacteriano com 50µg/µL, e, em uma concentração equivalente ao dobro da CIM, foi capaz de eliminar a bactéria, demonstrando atividade bactericida.

Comparando com os estudos de TRIGUI et. al., (2013), onde foi utilizada uma planta da mesma família, as cepas de *S. aureus* e *E. faecalis* tiveram uma CIM de 0,625µg/µL. Portanto, observa-se que a *Daphnopsis racemosa* Griseb tem uma eficácia consideravelmente menor, uma vez que a CIM observada 50µg/µL é bem mais alta do que a encontrada nos estudos.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se, portanto, que o extrato da planta *Daphnopsis racemosa* Griseb apresenta um potencial bacteriostático contra *S. aureus*, pois inibiu seu crescimento. No entanto, o extrato demonstra uma ação bactericida contra *E. faecalis*, sendo capaz de eliminar as células bacterianas em concentrações mais elevadas. Esses resultados indicam que o extrato pode ser uma alternativa promissora para a formulação de tratamentos antimicrobianos voltados para diferentes cepas bacterianas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI).** Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard — Third Edition (CLSI document M27-A3). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
- BAUMHARDT, F. et al.** *Daphnopsis racemosa* Griseb.: propriedades medicinais e usos tradicionais. *Revista de Plantas Medicinais e Veterinárias*, v. 12, n. 4, p. 112-120, 2018.
- MARMOUZI, I.; EL AYOCHA, H.; OUEDRHIRI, W.** Tiglane and daphnane diterpenoids from Thymelaeaceae family: chemistry, biological activity, and potential in drug discovery. *Journal of Natural Medicines*, v. 75, n. 2, p. 453-470, 2021.
- NACIF, C. M.; ALVES, L. A.** Enterococcus faecalis: virulência e resistência. *Revista de Microbiologia Médica*, v. 39, n. 4, p. 273-279, 2010.
- OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S.; 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.
- PEDROSO, C. B.; PEREIRA, M. G.; SILVA, F. T.** O uso de plantas medicinais e suas aplicações farmacêuticas no Brasil: Um estudo cultural e científico. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 31, n. 2, p. 150-160, 2021.
- SILVA, et al.** Estudos detalhados sobre plantas medicinais e compostos bioativos: novas alternativas contra microrganismos resistentes. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 57, n. 3, p. 410-422, 2021.

TRIGUI, H.; BOUKHARY, A.; GOUIS, A.; MAHFOUDH, M. Antimicrobial activity of extracts from the family Thymelaeaceae against human pathogens. *Journal of Medicinal Plants Research*, v. 7, n. 3, p. 126-132, 2013.