

ESTUDO COMPARATIVO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE EXTRATOS VEGETAIS DE *Senna spectabilis*, *Rosmarinus officinalis* E *Eugenia uniflora* FRENTE À CEPA PADRÃO DE *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 E *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

Vinicius Pereira Arantes¹
Lays Fernandes dos Santos²
Karen da Silva Diniz²
Gabriela Oliveira da Silva²
Gustavo Meireles Costa³

ARANTES, V. P.; SANTOS, L. F. dos; DINIZ, K. da S.; SILVA, G. O. da; COSTA, G. M. Estudo comparativo da atividade antibacteriana de extratos vegetais de *Senna spectabilis*, *Rosmarinus officinalis* e *Eugenia uniflora* frente à cepa padrão de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. *Arq. Cienc. Saúde UNIPAR*, Umuarama, v. 20, n. 3, p. 151-158, set./dez. 2016.

RESUMO: O interesse em terapias alternativas e o uso terapêutico por derivados de plantas vêm crescendo nos últimos anos, obtendo um grande avanço científico no aspecto químico e farmacológico, a Organização Mundial da Saúde (OMS), considera as plantas medicinais como importantes instrumentos da assistência farmacêutica. Objetivo: Determinar atividade antibacteriana comparada entre os extratos de *Senna spectabilis*, *Rosmarinus officinalis* e *Eugenia uniflora* frente à cepa padrão de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. As folhas de *E. uniflora*, *R. officinalis* e *S. spectabilis* foram coletadas no Horto de plantas medicinais da Universidade Estadual de Maringá – UEM/PR e as cepas foram fornecidas pela Universidade Paranaense – Unipar. A atividade antibacteriana foi determinada por meio da técnica do microdiluição em placa, empregando revelador de crescimento Alamar Blue Assay (MABA). A concentração mínima inibitória (CIM) empregando *R. officinalis*, *E. uniflora*, frente a cepa de *S. aureus* ATCC pode revelar resultados de 125 µg/mL, para extratos de *S. spectabilis* o CIM foi de 250 µg/mL; para *S. pyogenes* o CIM de 125 µg/mL foi admitido apenas para *R. officinalis* e *S. spectabilis*, *E. uniflora* apresentou resultados de 500 µg/mL, para *P. aeruginosa* o CIM para os três extratos foi superior a 500 µg/mL. Os extratos são promissores quando empregados contra *S. aureus* e *S. pyogenes*, exceto para *P. aeruginosa*, no entanto cabe buscar novas alternativas para tratamento deste Gram-negativo.

PALAVRAS-CHAVE: Antibacteriano. Extratos vegetais. Resistência.

COMPARATIVE STUDY ON THE ACTIVITY OF *Senna spectabilis*, *Rosmarinus officinalis* AND *Eugenia uniflora* VEGETABLE ANTIBACTERIAL EXTRACTS AGAINST *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 AND *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 STANDARD STRAINS.

ABSTRACT: The interest in alternative therapies and therapeutic use of plant extracts has been increasing in recent years, and has had great scientific advances regarding the chemical and pharmacological aspects. The World Health Organization (WHO) considers medicinal plants as important pharmaceutical care instruments. In order to determine the compared antibacterial activity between *Senna spectabilis*, *Rosmarinus officinalis* and *Eugenia uniflora* extracts against standard strains of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, the leaves of *E. uniflora*, *R. officinalis* and *S. spectabilis* were collected in the medicinal plant garden of the State University of Maringá - UEM/PR, and strains were provided by University Paranaense - Unipar. The antibacterial activity was determined by broth microdilution plate technique using Alamar Blue Assay (MABA) growth revelant. The minimum inhibitory concentration (MIC) using *R. officinalis*, *E. uniflora* against the *S. aureus* ATCC strain revealed results of 125 µg/mL, for *S. spectabilis* extracts, MIC was of 250 µg/mL; *S. pyogenes* resulted in a MIC of 125 µg/mL was admitted only for *R. officinalis* and *S. spectabilis*, *E. uniflora* results showed 500 µg/mL, and for *P. aeruginosa*, MIC was greater than 500 µm/mL for the three extracts. The extracts are considered as promising when used against *S. aureus* and *S. pyogenes*, but not for *P. aeruginosa*. However, new alternatives are being sought for treating this gram-negative strain.

KEYWORDS: Antibacterial. Plant extracts. Resistance.

Introdução

O Brasil possui a maior biodiversidade do mundo, contando com um número estimado de mais de 20% do total de espécies do planeta (FARIAS et al., 1994, BRASIL, 2006; ALVES et al., 2008). A Organização Mundial da Saúde (OMS) considera plantas medicinais como importantes instrumentos da assistência farmacêutica. Destaca-se pela própria OMS que cerca de 70% a 90% da população dos países em vias de desenvolvimento dependem das plantas me-

dicinais como ferramenta para o desenvolvimento da atenção primária à saúde (SIMÕES et al., 2000; BISWAS et al., 2002; CORDEIRO et al., 2006)

As plantas são ferramentas interessantes para o controle do desenvolvimento de resistência bacteriana, e a pesquisa de alternativas terapêuticas representa um dos grandes desafios para a saúde pública (SPELLBERG et al., 2004; ALVIANO; ALVIANO, 2009). A resistência deve-se a alterações genéticas em microrganismos, que codificam diferentes mecanismos bioquímicos e impede a ação das drogas,

¹Docente do curso de farmácia da Universidade Paranaense- Unipar- Unidade de Paranavaí (vinicius@unipar.br). Endereço: Avenida Senador Souza Naves, 613- CEP:87.650.000. Centro – Cruzeiro do Sul – Pr.

²Acadêmicas do programa de iniciação científica (PIC) - curso de farmácia da Universidade Paranaense-Unipar- Unidade de Paranavaí. Endereço: Avenida Huberto Bruning, 360 CEP:87706-140. Paranavaí-Pr.

³Docente do curso de farmácia da Universidade Paranaense- Unipar- Unidade de Paranavaí (gustavomeireles@unipar.br). Endereço: Rua Santos Dumont, Apto 401 CEP: Zona 3 – Maringá – Pr.

resultando na interferência na síntese de parede celular; inibição da síntese de proteína; destruição da parede celular e alterações na síntese do ácido nucléico (TENOVER, 2006; CHATTOPADHYAY et al., 2009).

Destacamos o estudo de *Senna spectabilis*, *Rosmarinus officinalis* e *Eugenia uniflora*. O gênero *Senna* é sinônimo de *Cassia*, pertence à família Leguminosae, no qual compreende mais de 300 espécies. No Brasil são encontradas na caatinga e no cerrado, também conhecida como cássia-do-nordeste, muitas espécies são usadas e cultivadas como plantas ornamentais por produzirem belas flores em zonas tropicais e subtropicais, reconhecida por suas atividades biológicas e propriedades farmacológicas. Espécies de *Senna* têm sido utilizadas na medicina como antigripal e para resfriados, como laxativo, atividade esta atribuída à presença de antraquinonas, purgante e outras atividades tem sido reportadas como antibacteriana, antifúngica e antioxidante (TOREY et al., 2010). *Rosmarinus officinalis* pertence à família Labiateae popularmente conhecido como alecrim, alecrim-de-horta e alecrim-de-cheiro (SILVA, et al., 1995). Planta pequena de porte arbustivo podendo chegar a 1,5 m de altura, possui folhas aromáticas ricas em óleo essencial, sendo nativa na região mediterrânea e cultivada em diferentes países de clima temperado (FARIAS et al., 1994; MATOS; LORENZI, 2002). Diversas atividades biológicas têm sido relatadas para esta planta como antioxidante, antiparasitária, antissépticas, estimulante da memória, antiespasmódico em cólica renal, disminorréia, alívio de distúrbios respiratórios e estimular o crescimento capilar (SVOBODA; DEANS, 1992; AL-SEREITA; ABU-AMERB; SENA, 1999).

Eugenia uniflora pertence à família Myrtaceae, conhecida popularmente como pitangueira. É nativa do Brasil pode ser encontrada também na Argentina, Paraguai e Uruguai, tendo assim a capacidade de se adaptar a diferentes tipos de clima e solo. Possui frutos comestíveis sendo ricos em vitamina C e pró-vitamina A (OLIVEIRA et al., 2006). Foram relatadas atividades para esta espécie como anti-inflamatório, anti-hipertensiva, anti-inflamatória, antioxidante e também utilizado em bronquites, tosse, febre, ansiedade, e verminoses (SCHAPOVAL et al., 1994; ALMEIDA et al., 1995; AURICCHIO; BUGNO; BARROS, 2007; CORREA et al., 2011; BRANDELLI et al., 2009).

O estudo realizado por Costa et al., (2013) com extrato hidroalcoólico de plantas medicinais com uso popular como *E. uniflora*, *R. officinalis* e *S. spectabilis* demonstraram atividade antimicrobiana, o que vem a corroborar com a pesquisa de atividade do presente estudo.

O objetivo do trabalho foi avaliar e comparar os extratos vegetais de *S. spectabilis*, *R. officinalis* e *E. uniflora*, frente a cepas de origem padrão, American Type Culture Collection (ATCC) de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Material e Métodos

Coleta e preparo do material vegetal

O material vegetal foi colhido entre os meses de Abril e Junho de 2015 no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Estadual de Maringá - UEM. As folhas foram

transferidas para sacos plásticos, transportadas até o laboratório de Microbiologia da Unipar (Paranavaí-Pr). O material vegetal foi imerso em solução de hipoclorito de sódio a 0,01% por tempo de 45 min. A secagem foi realizada em estufa de ar circulante estufa a temperatura de 40°C por 72 horas. Após este período, material vegetal foi triturado em moimho elétrico e armazenado em frascos âmbar.

Preparo do extrato vegetal

Os extratos foram preparados utilizando 100 g de folhas secas trituradas para 1000 mL de solvente orgânico. Para obtenção do extrato, a massa recém-pesada foi transferida para o aparelho de turbólise e submetido à agitação por tempo de 10 min. e descanso de 5 min., este ciclo foi repetido por 3 vezes. Após a extração, o produto da turbólise foi filtrado, rotavaporado e acondicionado em frasco âmbar até o momento de uso. Para produção dos extratos empregou-se álcool etílico 70%, hexano (PA) e acetato de etila (PA).

Cepa Padrão

A cepa de origem padrão *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 Newprov® empregada neste estudo, foram adquiridas pela Universidade Paranaense-Unipar.

Determinação da atividade antibacteriana

Para determinação da Concentração Mínima Inibitória – CIM as cepas foram reativadas empregando Infusão Cérebro Coração–BHI, favorecendo o crescimento das cepas. Preparou-se uma suspensão bacilar com cada cepa adquirida, empregando solução fisiológica estéril (NaCl 9,0 g/L), estabilidade e turbidez comparada a escala número 1 de Mac-Farland. A suspensão padrão foi analisada quanto ao crescimento e contagem em UFC/mL, apresentando crescimento normal do microrganismo quando semeado em Ágar Mueller – Hinton.

Microdiluição em placa

O experimento foi realizado em triplicata utilizando o método de microdiluição em microplaca contendo 96 poços, seguindo as recomendações padronizadas por Franzblau (1998) e adaptações segundo o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Para a realização da técnica de microdiluição pela metodologia do MABA (*Microplate Alamar Blue Assay*), foi utilizada placa estéril de 96 orifícios. Nas colunas 1 e 12 em linhas de A até H foram adicionados 200 µL de água destilada estéril, perfazendo a necessidade de evitar provável evaporação dos compostos a serem testados (FRANZBLAU et al., 1998).

Nos orifícios presentes nas linhas de A até D da coluna 11 Adicionou-se 200 µL de caldo Mueller-Hinton, enquanto que nos orifícios correspondentes de E a H da coluna 11 adicionou-se 100 µL de caldo Mueller-Hinton. Nos orifícios correspondentes da linha A de colunas de 2 a 10 foi adicionado 150 µL de meio caldo Mueller-Hinton e os de li-

nha B a H referentes a coluna 2 a 10, foram adicionados 100 µL de caldo Mueller-Hinton.

Acrescentaram-se os extratos a serem testados. Todos os extratos foram diluídos para que tivessem concentração inicial de 16.000 µg/mL. A linha A e B da microplaca e colunas de 2 a 10, procedeu-se nova diluição e todos os extratos partiram da diluição de 4.000 µg/mL (linha A); 4.000 µg/mL (linha B); 2.000 µg/mL (linha C); 1.000 µg/mL (linha D); 500 µg/mL (linha E); 250 µg/mL (linha F); 125 µg/mL (linha G); 62.5 µg/mL (linha H).

Os orifícios de coluna 2 a 10 da linha A receberam 50 µL da diluição de 16.000 µg/mL. Os orifícios de linhas B referentes às colunas de 2 a 9 receberam 100 µL de extrato e a coluna 10 a substância padrão (Ceftazidima 1 mg/mL). Após a homogeneização da linha B, procede à diluição de linha B a H de colunas de 2 a 10, ao final desprezar volume de 100 µL.

Adicionou-se a suspensão bacilar diluída 1:25 referente a escala n.1 de MacFarland realizada após protocolo de obtenção da suspensão bacilar. Os orifícios de colunas de 2 a 10 e linhas de B a H receberam volume de 100 µL de suspensão de bactérias, os orifícios das linhas E a H, referentes à

coluna 11 receberam 100 µL da suspensão de bactérias, com o intuito de ser controle positivo.

As placas foram seladas com filme de polietileno e incubadas em estufa de crescimento aeróbio à temperatura de 37° C, por período de 24/48 horas de incubação os orifícios A -11 e E -11, receberam 25 µL de solução reveladora de Alamar Blue na proporção 1:1 e solução de Tween 80 a 10% para cada cepa. As placas foram assim reincubadas por 24 horas a 37° C. A presença de cor rósea indica crescimento microbiano e a presença de coloração azul, indica ausência de crescimento microbiano, quando cores intermediárias, as placas foram reincubadas por mais 24 horas.

Resultados

A metodologia de microdiluição em placa, com a finalidade de avaliação antifúngica empregando revelador crescimento Alamar Blue Assay – MABA, como teste padrão ouro, os resultados obtidos foram comparados à técnica de macrodiluição. Os testes realizados foram avaliados em triplicata.

Tabela 1: Atividade antibacteriana frente à cepa padrão de *P. aeruginosa* ATCC 27853, empregando extratos de *S. spectabilis* produzido com solventes de diferentes polaridades.

<i>Microrganismo</i>	<i>Concentração µg/mL</i>	<i>Etanólico 70° GL</i>	<i>Acetato de etila</i>	<i>Hexano</i>
Cepa padrão <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	2000	C+	C--	C+
	1000	C+	C--	C+
	500	C+	C+	C+
	250	C+	C+	C+
	125	C+	C+	C+
	62,5	C+	C+	C+

C+ crescimento normal frente ao extrato; C-- crescimento inibido quando exposto ao extrato.

Notoriamente, o gênero *Pseudomonas* e particularmente a espécie *P. aeruginosa* foi caracterizado como microrganismo resistente ao efeito de vários compostos antibacterianos, inclusive de extratos empregando diferentes solventes. Podendo ser explicado pelo fato destas bactérias apresentarem uma membrana mais externa, o que impede a entrada de várias moléculas com poder de inibição ou bactericida, assim como contêm enzimas, com a capacidade de quebrar substâncias estranhas introduzidas ao meio (DUFFY; POWER, 2001; HOLETZ et al., 2002; PESSINI et al., 2003).

A tabela 1 destacou muito bem este parâmetro, que se associa ao estudo de extratos contendo substâncias com diferentes polaridades e mesmo assim não foi diagnosticado CIM que corresponda interesse futuro, todos foram superiores a 500 µg/mL, apenas para acetato de etila, fato que inviabiliza seu uso em extratos brutos. A cepa em estudo apresentou-se sensível quando exposta à concentração de 1mg/mL de ceftazidima, medicamento empregado como droga controle.

Tabela 2: Atividade antibacteriana frente à cepa padrão de *P. aeruginosa* ATCC 27853, empregando extratos de *R. officinalis* produzido com solventes de diferentes polaridades.

<i>Microrganismo</i>	<i>Concentração µg/mL</i>	<i>Etanólico 70° GL</i>	<i>Acetato de etila</i>	<i>Hexano</i>
Cepa padrão <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	2000	C+	C+	C+
	1000	C+	C+	C+
	500	C+	C+	C+
	250	C+	C+	C+
	125	C+	C+	C+
	62,5	C+	C+	C+

C+ crescimento normal frente ao extrato; C-- crescimento inibido quando exposto ao extrato.

Destacou-se na tabela 2, efeito pronunciado de resistência da cepa de *P. aeruginosa* ATCC 27853, empregando extratos de diferentes polaridades e nenhuma resposta de

CIM, mesmo ao empregar concentrações superiores a 1000 µg/mL.

Tabela 3: Atividade antibacteriana frente a cepa padrão de *P. aeruginosa* ATCC 27853, empregando extratos de *E. uniflora* produzido com agentes extratores de diferentes polaridades.

<i>Microrganismo</i>	<i>Concentração</i> µg/mL	<i>Etanólico 70° GL</i>	<i>Acetato de etila</i>	<i>Hexano</i>
Cepa padrão <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	2000	C+	C--	C+
	1000	C+	C+	C+
	500	C+	C+	C+
	250	C+	C+	C+
	125	C+	C+	C+
	62,5	C+	C+	C+

C+ crescimento normal frente ao extrato; C-- crescimento inibido quando exposto ao extrato.

Na tabela 3, destacou-se apenas um efeito discreto ATCC 27853, necessitando de 2000 µg/mL, extrato de do extrato de *E. uniflora* frente a cepa padrão de *P. aeruginosa* acetato de etila para exibir inibição microbiana.

Tabela 4: Atividade antibacteriana frente à cepa padrão de *S. aureus* ATCC 6538, empregando extratos de *S. spectabilis* produzido com solventes de diferentes polaridades.

<i>Microrganismo</i>	<i>Concentração</i> µg/mL	<i>Etanólico 70° GL</i>	<i>Acetato de etila</i>	<i>Hexano</i>
Cepa padrão <i>S. aureus</i> ATCC 6538	2000	C--	C--	C+
	1000	C--	C--	C+
	500	C--	C--	C+
	250	C--	C--	C+
	125	C+	C+	C+
	62,5	C+	C+	C+

C+ crescimento normal frente ao extrato; C-- crescimento inibido quando exposto ao extrato.

De acordo com a tabela 4, o efeito pronunciado do extrato de *S. spectabilis* frente à cepa de *S. aureus* ATCC 6538, para os extratos empregando-se álcool 70°GL e acetato de etila os efeitos de inibição foram mais evidentes, ambos apresentaram resposta na concentração de 250 µg/mL.

Tabela 5: Atividade antibacteriana frente à cepa padrão de *S. aureus* ATCC 6538, empregando extratos de *R. officinalis* produzido com agentes extratores de diferentes polaridades.

<i>Microrganismo</i>	<i>Concentração</i> µg/mL	<i>Etanólico 70° GL</i>	<i>Acetato de etila</i>	<i>Hexano</i>
Cepa padrão <i>S. aureus</i> ATCC 6538	2000	C--	C--	C--
	1000	C--	C--	C--
	500	C--	C--	C--
	250	C+	C--	C+
	125	C+	C--	C+
	62,5	C+	C+	C+

C+ crescimento normal frente ao extrato; C-- crescimento inibido quando exposto ao extrato.

Na análise da Tabela 5, verificou-se efeito pronunciado *R. officinalis* para os três extratos etanol, acetato de etila e hexano, sendo correspondente aos CIM's de 500, 125 e 500 µg/mL respectivamente. O extrato de acetato de etila demonstrou-se como mais eficaz neste caso.

Tabela 6: Atividade antibacteriana frente à cepa padrão de *S. aureus* ATCC 6538, empregando extratos de *E. uniflora* produzido com solventes de diferentes polaridades.

<i>Microrganismo</i>	<i>Concentração</i> µg/mL	<i>Etanólico 70° GL</i>	<i>Acetato de etila</i>	<i>Hexano</i>
Cepa padrão <i>S. aureus</i> ATCC 6538	2000	C--	C--	C--
	1000	C--	C--	C--
	500	C--	C--	C--
	250	C--	C--	C--
	125	C+	C--	C--
	62,5	C+	C+	C+

C+ crescimento normal frente ao extrato; C-- crescimento inibido quando exposto ao extrato

Na tabela 6, evidenciou-se o efeito inibidor da cepa de *S. aureus* na concentração de 125 µg/mL para os extratos de acetato de etila e hexano. Para o extrato etanólico, a res-

posta foi de 250 µg/mL, como concentração capaz de provocar inibição.

Tabela 7: Atividade antibacteriana frente à cepa padrão de *S. pyogenes* ATCC 19615, empregando extratos de *S. spectabilis* produzido com solventes de diferentes polaridades.

<i>Microrganismo</i>	<i>Concentração µg/mL</i>	<i>Etanólico 70° GL</i>	<i>Acetato de etila</i>	<i>Hexano</i>
Cepa padrão <i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	2000	C--	C--	C--
	1000	C--	C--	C--
	500	C--	C--	C--
	250	C+	C+	C+
	125	C+	C+	C+
	62,5	C+	C+	C+

C+ crescimento normal frente ao extrato; C-- crescimento inibido quando exposto ao extrato.

Na tabela 7 evidenciou-se efeito inibidor da cepa de *S. pyogenes* para os três extratos testados na concentração de 500 µg/mL, resultado com efeito discreto, onde se sabe que

o ideal é apresentar inibição inferior a 250 µg/mL para considerar como efeito pronunciado (FRANZBLAU et al., 1998; HOLETZ et al., 2002).

Tabela 8: Atividade antibacteriana frente à cepa padrão de *S. pyogenes* ATCC 19615, empregando extratos de *R. officinalis* produzido com solventes de diferentes polaridades.

<i>Microrganismo</i>	<i>Concentração µg/mL</i>	<i>Etanólico 70° GL</i>	<i>Acetato de etila</i>	<i>Hexano</i>
Cepa padrão <i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	2000	C--	C--	C--
	1000	C--	C--	C--
	500	C+	C--	C+
	250	C+	C--	C+
	125	C+	C+	C+
	62,5	C+	C+	C+

C+ crescimento normal frente ao extrato; C-- crescimento inibido quando exposto ao extrato.

De acordo com a tabela 8, observou-se um efeito pronunciado de inibição com CIM 250 µg/mL para o extrato de etila, caracterizando-se como potencial fonte para futuros

estudos mais na avaliação de outras atividades com microrganismos.

Tabela 9: Atividade antibacteriana frente à cepa padrão de *S. pyogenes* ATCC 19615, empregando extratos de *E. uniflora* produzido com solventes de diferentes polaridades.

<i>Microrganismo</i>	<i>Concentração µg/mL</i>	<i>Etanólico 70° GL</i>	<i>Acetato de etila</i>	<i>Hexano</i>
Cepa padrão <i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	2000	C--	C--	C--
	1000	C--	C--	C--
	500	C+	C--	C+
	250	C+	C--	C+
	125	C+	C--	C+
	62,5	C+	C+	C+

C+ crescimento normal frente ao extrato; C-- crescimento inibido quando exposto ao extrato

Na tabela 9 podem-se destacar os resultados de inibição ao *S. pyogenes* ATCC 19615 empregando a concentração de 125 µg/mL do extrato de *E. uniflora*, quando produzido com o solvente acetato de etila.

tratamento. Este interesse está principalmente em derivados de plantas medicinais, onde se obteve um grande avanço científico, envolvendo estudos químicos e farmacológicos visando obter novas entidades químicas com propriedades farmacêuticas, sendo demonstrado pelo grande número de trabalhos publicados na área (CECHINEL FILHO; YUNES 1998).

Discussão

O interesse por terapias alternativas e o uso terapêutico de produtos naturais tem crescido nos últimos anos, principalmente devido à medicina convencional ser ineficiente em alguns casos, ao uso incorreto e/ou abusivo, sendo que um grande número da população mundial não tem acesso ao

No estudo realizado por Auricchio; Bugno; Barros (2007), foi relatado que extratos hidroalcoólicos de folhas de *E. uniflora* possui atividade antimicrobiana frente a *S. aureus* com CIM de 80 µg/mL, atividade pode ser atribuída a composto fenólicos presente nas folhas como taninos e glicoside-

os de flavonoídes e óleo volátil, sendo os principais responsáveis pela atividade da planta. No presente estudo realizada com a mesma planta encontrou-se atividade parecida, porém no extrato hexânico com CIM de 125 µg/mL. Pessini et al., (2003) realizaram estudo com extratos de diferentes plantas utilizadas na medicina popular brasileira e verificaram que a espécie *E. uniflora* possui boa atividade antifúngica. Algumas plantas medicinais possuem alguns metabólitos como terpenos oxigenados, taninos, aldeídos e glicosídeos cardíacos, uma vez que a estes compostos podem ser atribuído à atividade antimicrobiana (BERTINI et al., 2005).

A melhor atividade obtida com *R. Officinalis* foi com extrato acetato de etila frente ao microrganismo *S. aureus* que pode ser explicado pela hidrofobicidade dos extratos graxos e óleos essenciais, o que torna mais permeável facilitando a penetração em compostos lipídicos na membrana celular de Gram-positivos, causando maior morte celular (DENYER; HUGO, 1991). Estudo realizado por Hussain et al., (2010) o óleo essencial de alecrim possui boa atividade antimicrobiana sendo comparado ao controle ciprofloxacino. A atividade antimicrobiana do óleo essencial pode ser atribuída aos compostos α -pineno, cânfora, verbenona e borneol, sendo este o mais potente (SANTOYO et al., 2005). Correa Junior; Ming; Schefer, (1991) relata que alguns fatores relacionados ao cultivo (tipo de solo, luz, umidade etc.) época da colheita pode interferir na composição química da planta e também na sua atividade.

Na busca por novas alternativas terapêuticas, as plantas, por sintetizarem substâncias com atividade antibacteriana, como compostos fenólicos, taninos, terpenos, cumarinas, isoflavonóides, glicosídeos e substâncias oleosas (YUNES; PEDROSA; CECHINEL FILHO, 1998; NASCIMENTO et al., 2000), passaram a despertar o interesse da indústria farmacêutica. Alguns estudos relataram atividade antibacteriana de extratos de *Azadirachta indica* frente a cepas da espécie *Streptococcus sp.* No estudo realizado por Subramanian et al., (2005), extratos produzidos a partir de folhas da planta demonstraram tal atividade contra *S. mutans* presentes na cavidade oral de humanos. Chattopadhyay et al., (2009) em seu estudo destacou forte atividade inibitória contra *S. aureus* dos extratos aquosos e etanólicos produzidos através das folhas de *A. indica*. Alves et al., (2008) verificou em seu estudo atividade antibacteriana dos extratos de *A. indica* contra cepas *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger* e *Escherichia coli*. No estudo realizado por Subramanian et al., (2005), extratos produzidos a partir de folhas desta planta demonstraram tal atividade contra *S. mutans* presentes na cavidade oral de humanos.

Cepas de *P. aeruginosa* isoladas em hospitais são marcadas inúmeras vezes por multirresistência, o paciente oriundo de UTI – Unidade de terapia intensiva tende a apresentar maior número de isolados. Os medicamentos como ciprofloxacina, imipenem, ceftazidima e piperacilina, são os mais citados pela literatura como suscetíveis ao microrganismo em desenvolver resistência em UTI. Os mecanismos de resistência desenvolvidos pelo microrganismo estão associados à modificação ou inativação do antimicrobiano, diminuição da permeabilidade celular e bomba de efluxo (KONEMAN et al., 2001; SOARES, 2005; FERREIRA; LALA, 2010; ALMEIDA et al; 2012).

Sabe-se que existe diferenças entre sensibilidade

de cepas de *P. aeruginosa sp.*, *S. aureus* e *S. pyogenes*, os testes justificam essas informações, cada microrganismo em estudo apresenta suas peculiaridades relacionadas a formação e constituição de parede celular, mecanismos de patogenicidade e desenvolvimento de resistência. No entanto, ao comparar-se *P. aeruginosa* com os demais, fica clara sua predominância em sobreviver na vigência de concentrações distintas dos extratos empregados neste trabalho.

Para os testes empregando *S. spectabilis*, o melhor efeito pronunciado foi de quando expostos ao *S. aureus* ATCC 6538, extrato hidroalcoólico e também nos estudos de acetato de etila com CIM de 250 µg/mL. De acordo com Krishnan et al., (2010) que analisaram a atividade antimicrobiana do extrato de folhas de *Senna spectabilis*, utilizando solventes de diferentes polaridades, verificaram que os extratos metanólicos e acetona obtiveram os melhores resultados de inibição frente a bactérias e fungos, comparados com os extratos de baixa polaridade, hexano, diclorometano e acetato de etila.

Conclusão

Conclui-se que o extrato de acetato de etila e hexânico de *R. officinalis* e *E. uniflora* respectivamente, foram ativos para *S. aureus* com concentração efetiva semelhantes de 125 µg/mL. O extrato de acetato de etila de *E. uniflora* foi ativo frente ao microrganismo *S. pyogenes* com CIM de 250 µg/mL. Frente à bactéria Gram-negativa *P. aeruginosa* nenhum dos extratos do presente trabalho demonstraram-se efetivos. Com o intuito de promover alternativas terapêuticas e diminuir efeitos colaterais, outros estudos deverão ser realizados com *S. spectabilis*, *E. uniflora* e *R. officinalis*.

Referências

- AL-SEREITA, M. R.; ABU-AMERB, K. M.; SENA, P. Farmacólogo of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. **Indian Journal of Experimental Biology**. v. 1, n. 37, pp. 124-131, 1999.
- ALMEIDA, C. E. et al. Analysis of anti-diarrhoeic effect of plants used in popular medicine. **Rev. de Saude Publica**, São Paulo, v. 29, n. 6, p. 428-433, 1995.
- ALMEIDA, M. G. C. et al. Perfil de sensibilidade a antimicrobianos em *Pseudomonas aeruginosa* de origem hospitalar e ambulatorial oriundas de laboratórios público e privado, em Belém, estado do Pará. **Revista Bras. Análises Clínicas**, 44(1), 44-49, 2012.
- ALVES, E. G. et al. Avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de *Miconia fallax* pelo método da microdiluição em caldo. **Revista da Sociedade de Química**, FURB, Novembro de 2008.
- ALVIANO, D. S.; ALVIANO, C. S. Plant extracts: search for new alternatives to treat microbial diseases. **Current Pharmaceutical Biotechnology**. v. 10. p. 106-121, 2009.
- AURICCHIO, M. T.; BUGNO, A.; BARROS, S. B. M. Antimicrobial and antioxidant activities and toxicity of

Eugenia uniflora. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 1, p. 76-81, 2007.

BERTINI, L. M. et al. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. **Infarma**, v. 17, n.º 3/4, 2005.

BISWAS, K. et al. Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). **Current Science**, V. 82, N. 11, 1336-1345, 2002.

BRANDELLI, C. L. C. et al. Indigenous traditional medicine: *in vitro* anti-giardial activity of plants used in the treatment of diarrhea. **Parasitology Research**, Kansas, v. 104, n. 6, p. 1345-1349, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisas de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 148 p. (Série B. Textos Básicos de Saúde).

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Quim. Nova**, v. 21, n. 1, p- 99 –105, 1998.

CHATTOPADHYAY, R. R. et al. A avaliação comparativa do potencial antibacteriano de algumas plantas utilizadas na medicina tradicional indiana para o tratamento de infecções microbianas. **Braz. arco. biol. Tecnologia**, v. 52, n. 5, p. 1123-1128, 2009.

CORDEIRO, C. H. G. et al. Análise Farmacognóstica e atividade antibacteriana de extratos vegetais empregados em formulação para a higiene bucal. **Revista Bras. Ciências Farmac**, v. 42, n. 3, p. 395-404, 2006.

CORREA JUNIOR, C.; MING, L. C.; SCHEFER, M. C. Cultivo de plantas medicinais, condimentares aromáticas. Curitiba: **Copiright Emater-Parana**, 80p. 1991.

CORREA, H. A. M. et al. Extracts from pitanga (*Eugenia uniflora* L.) leaves: Influence of extraction process on antioxidant properties and yield of phenolic compounds. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, n. 3, p. 998-1006, 2011.

COSTA, G. M. Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas medicinais. **Dissertação de mestrado - UEM/2013/ Maringá**. 73 fl. 2013.

DENYER, S. P.; HUGO, W. B. Biocide-induced damage to the bacterial cytoplasmic membrane. In S. P. Denyer, & W. B. Hugo (Eds.), *Mechanisms of action of chemical biocides* (pp. 171–188). **The Society for Applied Bacteriology**, Blackwell Scientific Publication, Technical Series 27, Oxford, London. 1991.

DUFFY, C. F.; POWER, R. F. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plants extracts. **Int J of Antimicro Agents**. v. 17, p. 527-529, 2001.

FARIAS, M. R. et al. Espécies vegetais empregadas na produção de fitoterápicos em Santa Catarina. In: **Simpósio de plantas Medicinais do Brasil, 12, 1994. Fortaleza. Anais**. Fortaleza, 1994, p. 125.

FERREIRA, H; LALA, E. R. P. *Pseudomonas aeruginosa*: Um alerta aos profissionais de saúde. **Revista Panamericana de Saúde**, 12 (2), 44-50, 2010.

FRANZBLAU, S. G. et al. Rapid, low-technology MIC determination with clinical Mycobacterium tuberculosis isolates by using the Microplate Alamar Blue Assay. **J. Clin. Microbiol**. v. 32, n. 2, p. 362-366, 1998.

HOLETZ, F. B. et al. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Mem. do Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

HUSSAIN, A. I. et al. *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. **Braz. J. Microb**. v. 41. p. 1070-1078. 2010

KRISHNAN, N. et al. Antimicrobial activity evaluation of *Cassia spectabilis* leaf extracts. **International J. of Pharmacology**. v. 6, n. 4, p. 510-514, 2010.

KONEMAN, E. et. al. **Diagnóstico microbiológico**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

MATOS, F. J. A.; LORENZI, H. Plantas medicinais no Brasil: Nativas e exóticas. Nova Odessa – SP, Instituto Plantarum de estudos da flora LTDA, 1ed. 261p. 2002.

NASCIMENTO, G. G. H. et. Al. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. **Braz. Jour. of Microb**. v. 31, p. 247-256, 2000.

OLIVEIRA, A. L. et al. Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 1-5, 2006.

PESSINI, G. L. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizadas na medicina popular. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 13 (supl 1): 21-24; 2003.

SANTOYO, S. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. **J. of Food Protection**. v. 68, n. 4. p. 790–795, 2005.

SCHAPOVAL, E. E. S. et al. Evaluation of some pharmacological activities of *Eugenia uniflora* L. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 44, n. 3, p. 137-142, 1994.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 3 ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, cap. 15, p. 301-332, 2001.

SILVA, I. et al. **Noções sobre o organismo humano e utilização de plantas medicinais**. Cascavel: Assoeste, 1995, 93.

SIMÕES, M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: 2 ed/editora UFRGS/UFSC, 2000.

SPELLBERG, B. et al. Trends in antimicrobial drug development : Implications for the future. *Antimicrobial Research and development*. v. 38, 2004.

SOARES, M. C. S. T. Estudo da resistência aos antimicrobianos em amostras *Pseudomonas aeruginosa* isoladas em hospitais da cidade de Niterói - Rj. DISSERTAÇÃO DE MESTRADO, NITERÓI-RJ, 2005.

SVOBODA, K. P.; DEANS, S. G. A study of the variability of Rosemary and sage and their volatile oils on the British market: their antioxidative properties. **Flavour and Fragrance journal**, v. 7, p. 81-87, 1992.

TENOVER, F. C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am. J. Med.* v. 119 (Suppl. 1), p. S3-S10, 2006.

TOREY, A. et al. Standardization of *Cassia spectabilis* with Respect to Authenticity, Assay and Chemical Constituent Analysis. **Molecules**. v. 15, p. 3411-3420, 2010.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

Recebido em: 24/03/2016

Aceito em: 23/11/2016