



Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos vegetais do caule e da folha de *Tridax procumbens*

Mariele Luzia Santos Pereira^{1*} (IC), Osvaldo Gomes Pinto² (PG), Plínio Lázaro Faleiro Naves² (PQ), Eliete Souza Santana² (PQ)

santosmariele611@gmail.com

¹Discente do Curso de Farmácia, Bolsistas de iniciação científica UEG-Campus de Ciências Exatas e Tecnológicas da UEG.

²Mestrando em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde e bolsista CAPES - Campus de Ciências Exatas e Tecnológicas da UEG.

²Professor - Campus de Ciências Exatas e Tecnológicas da UEG.

Resumo: A resistência microbiana é um problema grave de saúde pública, intensificado pelo consumo excessivo de antibióticos, o que gera grande número de mortalidade, maior dispêndio no tratamento e dificulta o manejo clínico. Neste contexto, diante da necessidade de criação de novos fármacos e da extensa biodiversidade brasileira, as plantas representam um importante recurso. No presente trabalho, avaliou-se a toxicidade e a atividade antimicrobiana do extrato bruto alcoólico e das frações: hexânica, clorofórmica, metanólica e com acetato de etila, da erva *Tridax procumbens* Linn., pertencente à família Asteraceae. O ensaio de toxicidade realizado em *Artemia salina*, confirmou a atoxicidade da droga vegetal, conforme predizia a literatura. O ensaio de Concentração Mínima Inibitória (CMI), demonstrou que ao utilizar o extrato bruto alcóolico, o CMI foi de 1.000 µg.mL⁻¹ em relação ao *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Ao passo que para *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli*, o CMI detectado foi de 2.000 µg.mL⁻¹. Os resultados obtidos para as frações: hexânica, clorofórmica, com acetato de etila e metanólica, indicam CMI de 2.000 µg.mL⁻¹ para todos os microrganismos estudados. Não realizou-se o teste de Concentração Mínima Biocida. Isto porque a CMI indicou baixa atividade antimicrobiana.

Palavras-chave: Planta medicinal. Microbiologia. Toxicidade.

Introdução

O uso das plantas na medicina tradicional tem sido cada vez mais frequente, em contribuição ao tratamento e ou prevenção de algumas doenças. Isso tem ocorrido tanto por sua eficácia, que já foi observado em estudos científicos como por fazer parte da cultura de alguns povos (STEFANELLO et al., 2018).

A resistência bacteriana a antibióticos é um sério problema do ponto de vista clínico e de saúde pública. Há evidências que o tratamento indiscriminado de animais com antibióticos torne seus produtos e derivados, fonte para resistência aos





antibióticos na espécie humana (MOTA et al., 1971).

De acordo com Rezende et al. (2005), a ocorrência de resistência múltipla e cruzada, também denota a necessidade de adoção responsável de antimicrobianos em medicina veterinária e humana.

Atualmente está clara a necessidade do desenvolvimento de novos antimicrobianos buscando resolver problemas com a resistência a antibióticos, neste contexto, as plantas medicinais vêm ganhando um lugar de destaque, e os conhecimentos da medicina popular mostram-se uma ferramenta de busca promissora (SANTOS et al., 2015).

A espécie *T. procumbens* é utilizada na medicina popular em vários campos terapêuticos tais como antibacteriano utilizado alternado aos medicamentos convencionais e prevenção ao câncer (TADDEI & ROSAS-ROMERO, 2000).

O *T. procumbens* é utilizado na medicina popular nos tratamentos de diarreias, secreções brônquicas, hepatoprotetor, antiviral, cicatrizante de feridas, queda de cabelos além do uso como antisséptica e inseticida (CERQUEIRA et al., 2002). Alguns povos utilizam as folhas de *T. procumbens* consignados com outras ervas, por via oral para diabetes (PAREEK et al., 2009).

Estudos demonstram que *T. procumbens* possuem substâncias que conferem atividades medicinais (CERQUEIRA et al., 2002; MALDHURE, 2016).

Desta forma, justificam-se os estudos com objetivo de aprofundar o conhecimento das propriedades fitoterápicos de *T. procumbens* visando identificar e avaliar as suas ações farmacológicas, já que existem alegações de usos medicinais dessa espécie pela população e poucos relatos na literatura.

Material e Métodos

1. Delineamento experimental

Foi do tipo experimental, com amostragem semi probalística por conglomerado.

2. Amostras laboratoriais

A parte aérea das amostras vegetais de *T. procumbens* foram coletadas no





Central Parque Senador Onofre Quinan em Anápolis-GO. Os exames laboratoriais foram realizados no Laboratório de Microbiologia do Câmpus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas (CCET) da Universidade Estadual de Goiás (UEG).

3. Extratos vegetais

Amostras das plantas foram secas em estufa com circulação de ar a 40°C e em seguida, trituradas em moinho de facas. O material pulverizado foi deixado em maceração em etanol 96% por três dias, com três repetições, somando um total de nove dias, para a extração.

O extrato bruto concentrado foi obtido com a evaporação do solvente em um rotoevaporador sob pressão reduzida, a temperatura de 40°C. Posteriormente, foi realizado o fracionamento do extrato bruto etanólico das folhas em solventes de polaridade crescente: hexano, diclorometano e acetato de etila, e posteriormente, cada fração foi submetida a processos de purificação por métodos cromatográficos clássicos.

4. Padronização do inóculo

A padronização do inóculo foi feita pelo método de suspensão direta das colônias (CLSI, 2003), que consiste em fazer uma suspensão direta em solução salina, de colônias isoladas selecionadas de uma placa de ágar Mueller Hinton após 18-24 horas de incubação a 35° C. A suspensão foi ajustada para que sua turbidez coincida com a da solução padrão de McFarland 0,5, aproximadamente de $1 \text{ a } 2 \times 10^8$ UFC/mL, usando o Densichek plus (Densitômetro).

5. Análises Microbiológicas

5.1 Teste de toxicidade com *Artemia salina*

O teste de toxicidade foi feito utilizando placa de Elisa, onde foram colocados nos poços *Artemia salina*, solução salina e o composto diluído em seis concentrações diferentes, visando analisar a toxicidade dos extratos vegetais. Os compostos foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) e tween 80, nas concentrações de 2000, 1000,





500, 250, 125 e 62,5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

5.2 Concentração Mínima Inibitória (CMI)

Para determinação de CMI, foram utilizadas placa de Elisa, compostos diluídos nas concentrações de 2000, 1000, 500, 250, 125 e 62,5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, meio de cultura para possibilitar o crescimento dos microrganismos e as bactérias isoladas. Em cada poço foi pipetado 10 microlitros de caldo com microrganismo, 100 microlitros de Mueller Hinton e 100 microlitros do composto diluído nas devidas concentrações. Em seguida, foram analisadas em quais concentrações, os extratos foram capazes de inibir o crescimento bacteriano, seguindo assim, para o teste de Concentração Mínima Biocida (CMB).

5.3 Concentração Mínima Biocida (CMB)

Para realização do CMB foi retirado 10 microlitros de cada poço, a partir do qual o crescimento microbiano foi inibido, prosseguindo para inoculação em placa de petri com Muller Hinton. Posteriormente, as placas foram levadas à estufa, onde ficaram a 36°C por 24 horas, para em seguida ser analisado o crescimento bacteriano.

6. Análises estatísticas

Foi utilizado o teste T, a fim de fazer uma comparação entre a ação de antibióticos de uso comum e as diversas concentrações dos extratos vegetais de *T. procumbens*, frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Resultados e Discussão

1. Teste de toxicidade com *Artemia salina*

O teste de toxicidade com *Artemia salina* é realizado com o intuito de avaliar e antever a atividade tóxica de determinadas substâncias. Utiliza-se este crustáceo,





pois o mesmo é de fácil manipulação e baixo custo, tendo em vista que é capaz de formar cistos dormentes que podem ser armazenados durante um longo período sem perda de viabilidade (CALOW, 1993 *apud* LIMA, 2009).

Conforme a metodologia de AMARANTE (2011), considera-se atóxicos os compostos com $CL_{50} > 1.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, enquanto $CL_{50} > 500 \mu\text{g.mL}^{-1}$, indicam baixa toxicidade. Ao passo que CL_{50} entre 100 e $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$, determina moderada toxicidade. Por fim, com CL_{50} inferior a $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$, infere-se que a amostra é muito tóxica.

O extrato bruto alcoólico do vegetal, assim como as frações: hexânica, clorofórmica, metanólica e com acetato de etila das partes vegetativas de *Tridax procumbens*, apresentam os resultados elucidados na Tabela 1.

TABELA 1. Resultados obtidos das análises de toxicidade do extrato e frações do caule e da folha de *Tridax procumbens* frente a *Artemia salina*.

-	$CL_{50} (\mu\text{g.mL}^{-1})$
Extrato bruto alcoólico	> 2.000
Fração: hexânica	> 2.000
Fração: clorofórmica	> 2.000
Fração: acetato de etila	> 2.000
Fração: metanólica	> 2.000

Pode-se considerar, portanto, mediante os resultados obtidos que os extratos vegetais do caule e da folha de *T. Procumbens* são atóxicos.

2. Concentração Mínima Inibitória

A Concentração Mínima Inibitória (CMI), trata-se da menor concentração necessária de um determinado composto para inibir o crescimento de microrganismos. Quando uma substância possui esta propriedade, classifica-se a mesma como bacteriostática, haja vista sua capacidade de inibir a reprodução





bacteriana. Ressalta-se que a bactéria voltará a se reproduzir caso a droga seja retirada. Considera-se portanto, um efeito reversível que não resulta em morte ao microrganismo, mas em uma supressão de sua proliferação (SILVA, 2014).

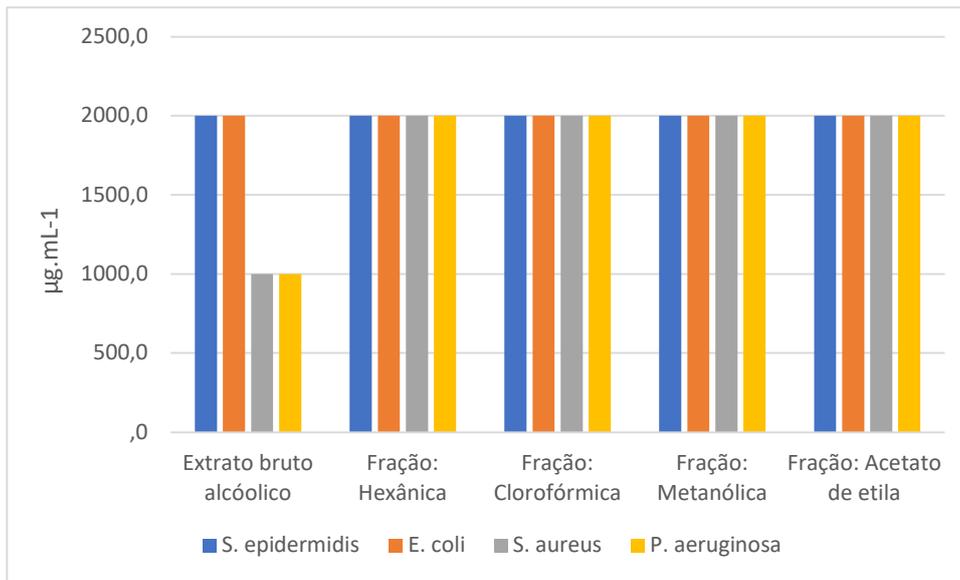
BHARATHI e colaboradores (2012), detectaram que o extrato aquoso, etanólico e metanólico de *T. procumbens*, possuíam atividade antimicrobiana frente a *E. coli*. Ademais, identificaram que o extrato de acetato etílico da referida droga, é capaz de inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, e *Bacillus cereus*.

Por outro lado, o trabalho realizado por PAI e colaboradores (2011), citado por GHOSH *et al* (2019), obteve como resultado que a planta *T. procumbens*, apresenta atividade antimicrobiana apenas contra *Pseudomonas aeruginosa*. Neste estudo, quatro cepas bacterianas foram utilizadas: *Bacillus subtilis*; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; e *Pseudomonas aeruginosa*. Apenas o extrato alcoólico foi capaz de inibir o crescimento de cepas de *P. aeruginosa*.

Os resultados de Concentração Mínima Inibitória obtidos a partir da análise do extrato bruto alcoólico do vegetal, assim como as frações: hexânica, clorofórmica, metanólica e com acetato de etila das partes vegetativas de *Tridax procumbens* estão elucidados no Gráfico 1.

GRÁFICO 1. Resultados obtidos das análises de CMI do extrato e frações do caule e folha de *Tridax procumbens* frente a *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.





Em suma, observa-se que ao utilizar o extrato bruto alcóolico, o CMI foi de 1.000 µg.mL⁻¹, em relação ao *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Ao passo que para *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli*, o CMI detectado foi de 2.000 µg.mL⁻¹. Os resultados obtidos para as frações: hexânica, clorofórmica, com acetato de etila e metanólica, indicam CMI de 2.000 µg.mL⁻¹ para todos os microrganismos estudados.

Conforme a metodologia de HOLETZ e colaboradores (2002), tem-se que alta atividade antimicrobiana está nos resultados inferiores a 100 µg.mL⁻¹. CMI entre 100 e 500 µg.mL⁻¹, indica atividade antimicrobiana moderada. Baixa atividade antimicrobiana está entre 500 e 1.000 µg.mL⁻¹. Por fim, considera-se sem atividade antimicrobiana, os compostos cujo CMI está acima de 1.000 µg.mL⁻¹.

Deste modo, a partir dos resultados obtidos, infere-se que apenas o extrato bruto alcoólico vegetal de *T. procumbens*, possui baixa atividade antimicrobiana para *S. Aureus* e *P. Aeruginosa*.

3. Concentração Mínima Biocida

A Concentração Mínima Biocida (CMB), corresponde a quantidade mínima de composto capaz de matar os microrganismos. Quando um composto possui esta propriedade, diz-se que o mesmo possui efeito bactericida, ou seja, significa que o





mesmo é capaz de matar o microrganismo e não apenas inibir seu crescimento. Desta forma, a bactéria sofrerá uma reação irreversível e mesmo com a suspensão da droga, as mesmas não voltarão a se reproduzir (SILVA, 2014).

Tendo em vista os resultados supracitados para concentração mínima inibitória, não realizou-se o teste de Concentração Mínima Biocida. Isto porque a CMI foi alta em todas as frações analisadas e para todos os microrganismos avaliados.

Excetua-se apenas o bruto alcoólico de *T. procumbens*, que apresentou baixa atividade antimicrobiana para *S. Aureus* e *P. Aeruginosa*. Entretanto, ainda sim, não há viabilidade para a realização do teste de CMB.

Considerações Finais

A partir da presente pesquisa, pode-se concluir que o extrato vegetal de *T. procumbens* é atóxico e possui baixa atividade antimicrobiana frente a *S. Aureus* e *P. Aeruginosa*. Destaca-se ainda, a necessidade de novos estudos que visem elucidar e isolar as substâncias responsáveis por esta atividade.

Agradecimentos

Agradeço a Universidade Estadual de Goiás, o programa de Iniciação Científica e Tecnológica da UEG, a professora doutora Eliete Souza Santana.

Referências

AMARANTE, C. B. *et al.* Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*). **Revista: Acta Amazônica**. v. 41, p. 431– 434, 2011.

CERQUEIRA, E. S. *et al.* Indução de calos em erva-de-touro (*Tridax procumbens* L.) utilizando diferentes reguladores de crescimento e tipos de explantes. **Ciência Agrotécnica**, v. 26, n. 2, p. 301–308, 2002.





CLSI-Clinical Laboratory Standards Institute. **Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico**, NCCLS. 2003. 49p.

HOLETZ, F.B *et al.* Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.97, p. 1027-103, 2002.

LIMA, J. M. *et al.* Prospecção fitoquímica de *Sonchus oleraceus* e sua toxicidade sobre o microcrustáceo *Artemia salina*. **Revista: Planta Daninha**, v. 27, n. 1, Viçosa - Minas Gerais, 2009. Disponível em: 02-RPD-1244-2008-PF-p7-11.pmd (scielo.br). Acesso em: 16 de outubro de 2021.

MALDHURE, A. K. *Tridax Procumbens* Medicine for Life: an. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 6, n. 1, p. 810–815, 2016.

MOTA, R. A.; SILVA, K. P. C.; FREITAS, M. F. L.; PORTO, W. J. N.; SILVA, L. B. G.; PAREEK, H. *et al.* Evaluation of hypoglycemic and anti-hyperglycemic potential of *Tridax procumbens* (Linn.). **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 9, p. 2–8, 2009.

REZENDE, C. S. M. **Sorovares de *Salmonella* isolados de carcaças de frangos de corte abatidos no Estado de Goiás, Brasil, e perfil de resistência a antimicrobianos**. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2005, 102 p.

SANTOS, E. S.; HOSCHEID, J.; MATA, P.T.G.. Antibacterial activity of crude ethanolic and fractionated extracts of *Punica Granatum Linn.* fruit peels. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básicas e Aplicadas**, v. 36 n. 2, p. 219-225, 2015.

SILVA, P. **Farmacologia**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

SOJKA, W. J. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. Enteric diseases in newborn piglets, calves and lambs





due to *Escherichia coli* infection. **Vet. Bull.**, v. 41, p. 509- 522, 1971.

STEFANELLO, S. *et al.* Levantamento do uso de plantas medicinais na Universidade Federal do Paraná, Palotina – PR, BRASIL. **Extensão em Foco**, v. 1, n. 15, p. 15–27, 2018.

TADDEI, A.; ROSAS-ROMERO, A. J. Bioactivity studies of extracts from *Tridax procumbens*. **Phytomedicine**, v. 7, n. 3, p. 235–238, 2000.

Bharati, V.; Varalakshmi, B.; Gomathu, S.; Shanmugapriya, A.; Karpagam, T. Atividade antibacteriana de *Tridax procumbens* Linn. Int. J. **Pharm. Sci. Res.**, v. 3, p. 364-367, 2012.

GHOSH, P.; BISWAS, S.; BISWAS, M.; DUTTA, A.; CHATTERJEE, S. Morphological, Ethno biological and Phytopharmacological Attributes of *Tridax procumbens* Linn. (Asteraceae): A Review. **International Journal of Scientific Research**, v. 6, p. 182-191, 2019. DOI: <https://doi.org/10.26438/ijsrbs/v6i2.182191>.

