

AValiação DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA ESPÉCIE VEGETAL *Mikania glomerata* Sprengel CULTIVADA NO HORTO DE PLANTAS MEDICINAIS DA FAMETRO

Naira Lima Silva¹

Andréa Bessa Teixeira²

FAMETRO – Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza

nairalima82@gmail.com; dea_bessa@hotmail.com

Título da Sessão Temática: Fitoterapia

Evento: V Encontro de Monitoria e Iniciação Científica

RESUMO

As plantas medicinais vêm sendo cada vez mais utilizadas devido às suas propriedades paliativas e curativas, além de ser uma terapia alternativa que traz inúmeros benefícios aos usuários. O Brasil é um dos países do mundo com maior biodiversidade de plantas, além de estar associada a uma ampla diversidade étnica e cultural que tradicionalmente utilizam as plantas medicinais como principais formas de tratamento. Nos últimos anos, uma importante alerta mundial no âmbito da saúde, é o agravamento do problema relacionado à resistência microbiana. Nesse contexto, foi desenvolvido um projeto de pesquisa de Iniciação Científica, no qual visa contribuir para o conhecimento da atividade antimicrobiana das espécies vegetais cultivadas no Horto de Plantas Medicinais da FAMETRO, permitindo ser mais uma alternativa e opção de tratamento eficaz e econômico de doenças infecciosas, representando um excelente ponto de partida na busca de compostos farmacologicamente ativos. Como parte inicial, foi avaliada a atividade antimicrobiana da espécie vegetal *Mikania glomerata* sobre cepas microbianas provenientes da *American Type Culture Collection* (ATCC). A atividade antimicrobiana foi realizada através do método de difusão em ágar, modificado. Os resultados mostraram que não houve inibição de crescimento para nenhuma das cepas microbianas testadas, quando utilizadas a tintura hidroalcolica, tanto de folhas jovens como adulta, e a infusão das folhas da espécie vegetal *M. glomerata*.

Palavras-chave: Plantas medicinais. Atividade antimicrobiana. *Mikania glomerata*

INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos países do mundo com maior biodiversidade de plantas, além de estar associado a uma ampla diversidade étnica e cultural que tradicionalmente utilizam as

¹Relator do 6º semestre do curso de bacharelado em Farmácia. Discente vinculado ao Projeto de Pesquisa do Programa de Monitoria e Iniciação Científica (Promic) da Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza - FAMETRO.

²Farmacêutica, graduada pela Universidade Federal do Ceará, com habilitação em Análises Clínicas e Toxicológicas e mestre e doutora em Ciências Farmacêuticas da UFC. Docente do curso de Farmácia e Enfermagem da Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza (FAMETRO). Professora-orientadora do Projeto de Pesquisa do Programa de Monitoria e Iniciação Científica (Promic) da Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza - FAMETRO.

plantas medicinais como principais formas de tratamento em terapias alternativas. Também apresenta características sociais e econômicas que o tipifica como um país em desenvolvimento, no qual 80% da população dependem do uso de planta para atenção primária a saúde (BRASIL, 2012).

No Brasil, várias espécies nativas são largamente empregadas pela população com fins medicinais, entre estas pode ser destacada a espécie *Mikania glomerata*, popularmente conhecida como guaco (ANVISA, 2008). Pertencente à família Asteraceae e ao gênero *Mikania*, que conta com aproximadamente 430 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais da América, sendo que 171 espécies são encontradas no Brasil (CZELUSNIAK *et al.*, 2012). No Brasil a espécie *M. glomerata* é encontrada principalmente nas regiões sul, sudeste e nordeste (LORENZI; MATOS, 2003).

As folhas do guaco são bastante utilizadas pela população para diversas finalidades: cicatrizante, antirreumática, tratamento de distúrbios respiratórios, broncodilatadora, anti-inflamatória, estimulante do apetite e antigripal (CASTO *et al.*, 2006; LORENZI; MATOS, 2003; MOURA *et al.*, 2002).

Dessa forma, observa-se, cada vez mais, um aumento acentuado no uso de plantas medicinais pela população mundial e a tendência é de contínuo crescimento. O principal uso de plantas medicinais relatado na literatura é para o tratamento de doenças respiratórias, seguindo das inflamações em geral e das diversas formas de doenças intestinais.

Nos últimos anos, uma importante alerta mundial no âmbito da saúde, é o agravamento do problema relacionado à resistência microbiana. O problema se agrava ainda mais no que se refere ao arsenal terapêutico e ao desenvolvimento de novas drogas, que só diminui nas últimas décadas. A Organização Mundial de Saúde (OMS) diz que novos antimicrobianos devem ser desenvolvidos, enquanto governos e a população devem tomar medidas para retardar o processo de resistência dos micro-organismos (STEPHENS, 2014).

Assim, o conjunto dessas características importantes, como o uso promissor de plantas medicinais, o grande problema de resistência aos antimicrobianos, o estreito arsenal terapêutico para o tratamento de doenças infecciosas, tem estimulado as pesquisas para a busca de substâncias com atividade biológica, no sentido de dar uma base científica ao conhecimento popular, além de buscar novas estruturas químicas de interesse à indústria farmacêutica, já que muitos fitoterápicos são produzidos com fundamento no uso popular das plantas, sem nenhuma comprovação pré-clínica e clínica.

Nesse contexto, foi desenvolvido um projeto de pesquisa de Iniciação Científica, no qual visa contribuir para o conhecimento da atividade antimicrobiana das espécies vegetais

cultivadas no Horto de Plantas Medicinais da FAMETRO, permitindo ser mais uma alternativa e opção de tratamento eficaz e econômico de doenças infecciosas, representando um excelente ponto de partida na busca de compostos farmacologicamente ativos.

Como parte inicial do projeto de pesquisa, foi realizado um levantamento bibliográfico a fim de conhecer trabalhos publicados com essas espécies, suas atividades biológicas e, principalmente, uma investigação da atividade antimicrobiana e as espécies de micro-organismos sensíveis, bem como conhecer as principais partes do vegetal e a composição química envolvida nessa atividade. A escolha da primeira espécie de vegetal a ser estudado foi de forma aleatória: *Mikania glomerata*. Após desse levantamento, tendo como fruto a elaboração de um artigo publicado na Conexão Fametro 2016, deram prosseguimentos as outras etapas do projeto de pesquisa: a realização da atividade antimicrobiana. Assim o objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana do extrato vegetal da espécie *Mikania glomerata* sobre cepas provenientes da *American Type Culture Collection* (ATCC), bem como investigar a relação entre essa atividade biológica e a composição química dos extratos.

METODOLOGIA

As amostras de folhas da espécie *M. glomerata* foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais da Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza. Para início do procedimento, foi realizada, manualmente, a lavagem das folhas em água corrente. Após a pesquisa de materiais estranhos, a matéria-prima vegetal foi seca na estufa com temperatura aproximadamente de 40°C. Terminada a secagem, foi realizado o procedimento de percolação por 24 horas no Laboratório de Farmacognosia da FAMETRO. Ao final da percolação, foram produzidas amostras de 10 mL da tintura. A solução hidroalcoólica foi então concentrada em estufa com circulação forçada de ar para eliminar o teor alcoólico, e diluída em 10 mL de água destilada.

A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada no Laboratório de Análises Clínicas da FAMETRO, segundo o método de difusão em ágar (CLSI, 2003), modificado. Foram utilizadas cinco cepas microbianas provenientes da *American Type Culture Collection* (ATCC), doadas pelo laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Ceará: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 e *Candida albicans* ATCC 10231.

Para a determinação da atividade antimicrobiana, culturas microbianas puras

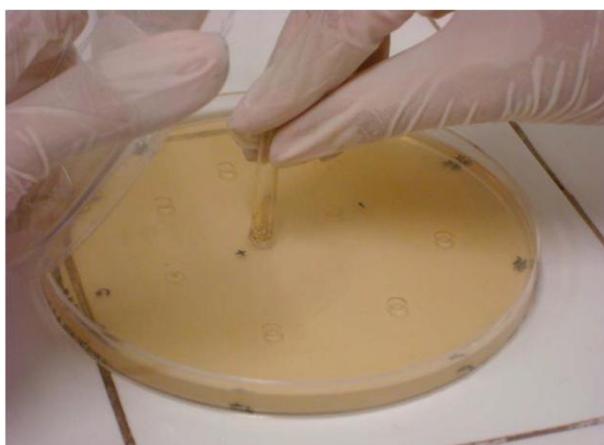
mantidas em ágar estoque sob refrigeração, foram repicadas para caldo infusão de cérebro e coração (caldo BHI), e após ativação *overnight* foram incubadas a 35°C até atingirem fase exponencial de crescimento. Após esse período, as culturas tiveram sua densidade celular ajustada em solução salina 0,85% estéril, de modo a se obter uma turbidez compatível com a do tubo 0,5 da escala de McFarland, o que resulta em uma suspensão microbiana contendo aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL.

Com auxílio de *swabs* estéreis, essas suspensões foram semeadas na superfície do ágar Mueller-Hinton (bactérias) e ágar Sabouraud dextrose (levedura), em três direções, para que fosse obtido um crescimento confluyente e homogêneo (**Foto 1**). Após 5 minutos, foram confeccionados poços de 6 mm de diâmetro externo no ágar, utilizando-se para isso um perfurador estéril (**Foto 2**). Nesses poços foram aplicados volumes de 25 µL de diferentes concentrações da tintura hidroalcolico das folhas da *M. glomerata* (**Foto 3**). Após 18h de incubação a 35°C, foi realizada a medida dos halos de inibição de crescimento, como auxílio de uma régua.



Fonte: Teixeira (2009).

Foto 1 – Semeadura das suspensões microbianas na superfície do ágar.



Fonte: Teixeira (2009).

Foto 2 – Confeção dos poços interno no ágar com auxílio de um perfurador.



Fonte: Teixeira (2009).

Foto 3 – Aplicação da tintura hidroalcoólica das folhas de *M. glomerata* em diferentes concentrações.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos dos ensaios de atividade antimicrobiana da tintura hidroalcoólica, tanto em folhas adultas como jovens, bem como a partir da infusão das folhas, foi observado que não houve inibição de crescimento microbiano para nenhuma das cepas testadas. Como demonstrado na tabela abaixo, não produziu halo de inibição de crescimento para nenhum grupo de micro-organismo: bactéria gram positivo, como *S. aureus* e *S. epidermidis*; gram negativo, como *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*; e levedura, como *C. albicans*.

Tabela 1 – Atividade antimicrobiana das folhas da espécie *Mikania glomerata* sobre cepas microbianas originárias da ATCC.

Cepas microbianas	Tintura hidroalcoólica folhas adultas	Tintura hidroalcoólica folhas jovens	Infusão
<i>S. aureus</i> ATCC 6538P	-	-	-
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	-	-	-
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	-	-	-

(-): Não formou halo de inibição de crescimento microbiano. Volume da tintura hidroalcoólica aplicada nos poços: 25 µL.

O resultado apresentado acima é diferente do que foi documentado na literatura por Santana *et al.* (2013), em que relata que o extrato etanólico padronizado de *M. glomerata* apresentou uma concentração inibitória mínima sobre cepas de *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *Escherichia coli* e *P. aeruginosa*, correspondente a 10 mg/mL. No entanto, é importante ressaltar que a metodologia usada pelo referido autor é diferente, uma vez que a atividade antimicrobiana foi testada pelo método de microdiluição em caldo, que é uma técnica que envolve o uso de pequenos volumes de reagentes e avaliação de um grande número de bactérias, fornecendo informações quantitativas indisponíveis quando utilizado o método de difusão em ágar.

Alguns fatores podem interferir nos resultados obtidos pelo método de difusão em ágar como a densidade do crescimento microbiano e a solubilidade da substância testada (LAMBERT *et al.*, 2001). Além disso, uma importante desvantagem desta técnica é que não há a possibilidade de determinar se uma droga é bactericida ou bacteriostática (TORTORA *et al.*, 2012), como no caso dos métodos de diluição.

Embora a técnica de difusão em ágar apresente limitações, esse teste é de grande utilidade, quando realizada em uma etapa preliminar e em associação com outras técnicas. Estimulando, assim, na continuação de mais testes para que realmente esgotem as possibilidades de afirmar ou não que a droga vegetal *M. glomerata* possui atividade antimicrobiana.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A tintura hidroalcoólica das folhas da espécie vegetal *Mikania glomerata* não inibiu o crescimento de cepas microbianas provenientes da *American Type Culture Collection* (ATCC). No entanto, o projeto de pesquisa seguirá com as outras etapas, como a realização da atividade antimicrobiana pelo teste de microdiluição em caldo, para ter a total informação quanto essa referida atividade biológica.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa (IN) nº 5, de 11 de dezembro de 2008. **Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 12 dezembro. 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na atenção básica/Ministério da Saúde**. Secretaria de Atenção à

Saúde. Departamento de Atenção Básica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2012. 156 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos) (Cadernos de Atenção Básica; n. 31).

CASTRO, E.M. *et al.* Coumarin contents in young *Mikania glomerata* plants (Guaco) under different radiation levels and photoperiod. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v.25, n.3, p.387-92, 2006.

CLINICAL AND A LABORATOY STANDARDS INSTITUTE. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bactéria that grow aerobically**. 6ª Edição Approved Standard, M7-A6, 2003.

CZELUSNIAK, K. E. *et al.* **Farmacobotânica, fitoquímica e farmacologia do Guaco: revisão considerando *Mikania glomerata* Sprengel e Schulyz Bip. ex Baker**. Universidade Estadual do Centro-Oeste, Campus Cedeteg, Departamento de Farmácia. Revista Brasileira Plantas Mediciniais, Botucatu, v.14, n.2, p.400-409, 2012.

LAMBERT, R. J. W. *et al.* A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal Applied of Microbiology**, v. 91, p. 453–462, 2001.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. 2003. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 254 p.

MOURA, R.S. *et al.* Antiophidian properties of the aqueous extract of *Mikania glomerata*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.54, n.2, p.249-56, 2002.

SANTANA, L.C.L.R *et al.* Avaliação do potencial antioxidante, atividade antimicrobiana e anti-helmíntica do extrato etanólico padronizados das folhas de *Mikania glomerata* Sprengel. **Revista Brasileira de Farmácia**. 94(2): 120-129, 2013.

STEPHENS, P. **Para OMS, resistência de bactérias a antibióticos é ‘ameaça global’**. BBC Brasil. 30/04/2014. Disponível em: <
http://www.bbc.co.uk/portuguese/noticias/2014/04/140430_resistencia_antibioticos_rb>
Acesso em: 24 de junho de 2017.

TEIXEIRA, A. B. **Avaliação das atividades antimicrobiana e antioxidante dos óleos essenciais das folhas dos quimiotipos I, II e III de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown**. 2009. 139 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

TORTORA, G.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10ª Edição, Porto Alegre, Editora Artmed, 934p. 2012.