



Avaliação da atividade antimicrobiana e citotoxicidade hemolítica em diferentes extratos vegetais

Andréia de Haro Moreno¹, Lucas Possebon¹, Moniele Sant'ana¹, Helena Ribeiro Souza¹,
Melina Misuzaki Iomasa Pilon¹, Ana Paula Girol¹

Resumo

Introdução: A busca por novos agentes terapêuticos tem incentivado as pesquisas com plantas medicinais, pois muitas delas podem apresentar propriedade antimicrobiana e conhecer o potencial citotóxico dos extratos é fundamental para garantir a segurança durante o uso. **Objetivo:** Avaliar a atividade antimicrobiana e a citotoxicidade hemolítica de *Arctium lappa* (bardana), *Equisetum arvense* (cavalinha), *Mikania glomerata* (guaco), *Morus nigra* (amora) e *Plantago major* (tanchagem), amplamente consumidos pela população na forma de chás medicinais. **Material e Métodos:** Os extratos etanólicos foram preparados a 20% por percolação. Na avaliação antimicrobiana foi utilizada a técnica de difusão em disco, empregando as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter* sp, *Enterococcus* sp e *Salmonella* sp. O ensaio de citotoxicidade baseou-se na exposição dos extratos a 5%, 25%, 50%, 75% e 100% em suspensão de hemácias a 37°C por 30 minutos, seguido de centrifugação e visualização do grau de hemólise. **Resultados:** Todos os extratos apresentaram inibição de crescimento microbiano, principalmente sobre *Acinetobacter* sp (amora), *Enterococcus* sp (amora e cavalinha), *K. pneumoniae* (amora, bardana e guaco), *P. aeruginosa* (cavalinha, tanchagem, bardana e guaco) e *Salmonella* sp (amora e bardana). No ensaio de citotoxicidade, o grau de hemólise foi classificado como baixo para tanchagem e bardana (5%) e médio para cavalinha, guaco e amora (25%) nas concentrações testadas. **Conclusão:** Os resultados mostram o potencial antimicrobiano dos extratos de amora, bardana, cavalinha, guaco e tanchagem contra bactérias Gram negativas e a baixa citotoxicidade hemolítica confirma a segurança no uso dos mesmos como agentes terapêuticos.

Descritores: Atividade antimicrobiana. Citotoxicidade hemolítica. Extratos vegetais.

Introdução

O uso de plantas medicinais para o tratamento de doenças e males sempre esteve presente em diversas culturas e populações, e por muito tempo, representou o principal e único recurso disponível para tratamento médico e matéria-prima para a fabricação de medicamentos⁽¹⁾. No Brasil a busca por plantas medicinais vem crescendo, tendo em vista suas propriedades terapêuticas e a enorme disponibilidade de matérias-primas vegetais passíveis de serem estudadas e avaliadas⁽²⁾.

Dentre as principais propriedades terapêuticas e medicinais oferecidas pelas plantas, destaca-se a atividade antimicrobiana, ou seja, a capacidade inibitória de crescimento de fungos e bactérias promovida pelos extratos obtidos a partir da droga vegetal⁽³⁾. Assim, a atividade antimicrobiana de extratos vegetais pode representar uma importante alternativa terapêutica e medicinal quando comparada aos agentes químicos utilizados rotineiramente, contra os quais os micro-organismos já desenvolveram inúmeros mecanismos de resistência⁽⁴⁾.

Porém, é de extrema importância que as plantas medicinais e seus respectivos extratos sejam considerados seguros, sem manifestações tóxicas ou sensibilizantes, que possam por em risco a saúde do usuário⁽⁵⁾. Uma das maneiras de se avaliar a segurança dos extratos é avaliar seu potencial citotóxico, ou seja, a capacidade do mesmo em provocar qualquer dano ou alteração fisiológica em células selecionadas para o estudo. Dentre as metodologias mais empregadas, destaca-se a avaliação da citotoxicidade hemolítica, que avalia o grau de hemólise provocado por uma substância (ou extrato) quando incubada com uma suspensão padronizada de hemácias⁽⁶⁾.

Desta forma, é importante que o potencial terapêutico, farmacológico e toxicológico das plantas que são usadas

na medicina popular seja estudado e comprovado, a fim de contribuir para a descoberta de novos agentes terapêuticos e novos usos para as plantas conhecidas.

Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana e a citotoxicidade hemolítica em extratos de plantas amplamente consumidas pela população brasileira na forma de chás e extratos, como a bardana (*Arctium lappa*), a cavalinha (*Equisetum arvense*), o guaco (*Mikania glomerata*), a amora (*Morus nigra*) e a tanchagem (*Plantago major*).

Material e Método

As amostras de folhas das plantas estudadas foram obtidas da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), polo regional centro norte. Inicialmente as folhas foram identificadas e secas em estufa com circulação e renovação de ar a 40°C até peso constante. Em seguida, foram trituradas e pulverizadas empregando-se a técnica de turbólise. Os extratos etanólicos foram preparados a 20% pela técnica de percolação durante 24-48 horas e posteriormente submetidos à evaporação do solvente etanólico em equipamento rotavapor com pressão reduzida, de acordo com o preconizado pela Farmacopeia Brasileira⁽⁷⁾.

Na avaliação da atividade antimicrobiana foi utilizada a técnica de difusão em disco⁽⁸⁾, empregando bactérias de interesse clínico, tais como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter* sp, *Enterococcus* sp e *Salmonella* sp. As culturas foram padronizadas em solução salina estéril de acordo com a escala 0,5 de Mac Farland e embebidos discos de papel com 20 µL de cada suspensão, os quais foram

¹Faculdades Integradas Padre Albino-(FIPA)-Catanduva-SP-Brasil,.

depositados sobre a superfície de placas contendo ágar Mueller Hinton. Após incubação a 37°C durante 24 horas os halos de inibição foram medidos com auxílio de paquímetro digital.

No ensaio de citotoxicidade foi preparada uma suspensão de hemácias a 4% em solução de glicose 5%. Em seguida, 1 mL desta suspensão foi distribuída em tubos de ensaio e homogeneizadas com 1 mL dos extratos diluídos em diferentes concentrações (5%, 25%, 50%, 75% e 100%). Após centrifugação a 3000 rpm durante 10 minutos, realizou-se a leitura visual do grau de hemólise. Foi usado como controle positivo 1 mL de solução de Triton X 114 a 1% e como controle negativo 1 mL da suspensão de hemácias a 4%.

Resultados

Na avaliação da atividade antimicrobiana todos os extratos apresentaram inibição de crescimento, principalmente sobre *Acinetobacter* sp (amora), *Enterococcus* sp (amora e cavalinha), *Klebsiella pneumoniae* (amora, bardana e guaco), *Pseudomonas aeruginosa* (cavalinha, tanchagem, bardana e guaco) e *Salmonella* sp (amora e bardana), com o aparecimento de halos de inibição de crescimento maiores que 1 cm, evidenciando o potencial inibitório dos extratos avaliados.

No ensaio de citotoxicidade, o grau de hemólise foi classificado como baixo para tanchagem e bardana (5%) e médio para cavalinha, guaco e amora (25%) nas concentrações testadas, indicando baixos potenciais de citotoxicidade e, portanto, indicando a segurança no uso dos mesmos.

Conclusão

Os resultados mostram o potencial antimicrobiano dos extratos etanólicos de amora, bardana, cavalinha, guaco e tanchagem, principalmente contra bactérias Gram negativas, e a baixa citotoxicidade hemolítica confirma a segurança no uso dos mesmos. Desta forma, as plantas analisadas neste trabalho podem apresentar potencial terapêutico e contribuir futuramente para a obtenção de novos agentes antimicrobianos.

Referências

1. Munhoz VM, Longhini R, Silva TAP, Lonni AASG, Souza JRP, Lopes GC, et al. Estudo farmacognóstico de flores de *Tagetes patula* L. (Asteraceae). Rev Fitos. 2013;7:225-30.
2. Castro RD, Freires IA, Ferreira DAH, Jovito VC, Paulo MQ. Atividade antibacteriana in vitro de produtos naturais sobre *Lactobacillus casei*. Int J Dent. 2010;9(2):74-7.
3. Reis LM, Rabello BR, Ross C, Santos LMR. Avaliação da atividade antimicrobiana de antissépticos e desinfetantes utilizados em um serviço público de saúde. Rev Bras Enferm. 2011;64:870-5.
4. Tintino SR, Neto AAC, Menezes IRA, Oliveira CDM, Coutinho HDM. Atividade antimicrobiana e efeito combinado sobre drogas antifúngicas e antibacterianas do fruto de *Morinda citrifolia* L. Acta Biol Colomb. 2015;20(3):193-200.
5. Maciel MAM, Pinto AC, Veiga JR. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. Quim Nova. 2002;25(3):429-38.
6. Desoti VC, Maldaner CL, Carletto MS, Heinz AA, Coelho MS, Piatti D, et al. Triagem fitoquímica e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de plantas medicinais nativas da região oeste do estado do Paraná. Arq Ciênc Saúde. 2011;15(1):3-13.
7. Farmacopeia Brasileira. 5 ed. Brasília: Anvisa; 2010.
8. Ostrosky EA, Mizumoto MK, Lima MEL, Kaneko TM, Nishikawa SO, Freitas BR. Métodos para avaliação antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória de plantas medicinais. Braz J Pharmacognosy. 2008; 18(2):301-7.