

Avaliação *in vitro* da atividade antibacteriana de *Baccharis Trimeria* (Less.) Dc (*Asteraceae*) frente as bactérias de importância médica.

CARVALHO R.S.¹; ALEIXO, A.A.¹; CAMARGOS, V. N.¹; SANTOS, M.¹; HERRERA, K.M.S.¹; MAGALHÃES, J. T.¹; LIMA, L.A.R.S.²; FERREIRA, J. M. S.¹

RESUMO

A prevalência de microorganismos multirresistentes tem aumentado em infecções nosocomiais, com isso novos antimicrobianos de origem vegetal tem sido utilizado, como o extrato hidroetanólico da *Baccharis trimeria*, conhecida como “carqueja”, uma espécie arbustiva comumente empregada na medicina tradicional. O presente trabalho determinou o potencial antimicrobiano do extrato hidroalcoólico bruto de *Baccharis trimeria* frente a bactérias Gram-positivas e Gram negativas prevalentes em infecções hospitalares. A sensibilidade bacteriana ao extrato foi avaliada pelo método de microdiluição em caldo no qual a concentração inibitória mínima (CIM) foi considerada como a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano. Apresentando atividade antibacteriana frente todas as bactérias Gram-positivas testadas, sendo *S. epidermidis* a mais sensível (CIM 250µg/mL). O extrato não mostrou atividade nas bactérias Gram negativas. Os resultados obtidos sugerem que essa espécie possui atividade bacteriostática frente a cepas Gram positivas de importância médica, cujos resultados podem apresentar subsídios para estudos posteriores de compostos isolados desta planta como antimicrobianos.

Palavras-chave: antibacterianos, *B. trimeria*, extrato bruto, concentração mínima inibitória

INTRODUÇÃO

A prevalência de microrganismos multirresistentes tem sido cada vez

maior em infecções nosocomiais, as quais tem causado um grave problema de Saúde Pública¹. Por isso, o uso de antimicrobianos a partir de fontes naturais pode ser uma alternativa no combate a estas infecções².

Assim como a espécie vegetal *Baccharis trimeria* (Less.) (Asteraceae), popularmente conhecida como “carqueja”, seus chás são obtidos por cozimento de toda a parte aérea desta planta e são tradicionalmente usados para o tratamento ou o controle de várias doenças.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* do extrato hidroalcoólico bruto de *Baccharis trimeria* frente a bactérias de importância médica. Para isto, foi avaliada a concentração inibitória mínima (CIM) através da técnica de microdiluição em caldo, conforme normas preconizadas pela CLSI, 2003.

MATERIAL E MÉTODOS

As partes aéreas de *B. trimeria* foram coletadas em um bairro da periferia Divinópolis, Minas Gerais, situado nas coordenadas 20° 8' 28" S e -44° 54' 33" O, com altitude de 712 metros, em maio de 2011. A exsicata da espécie foi depositada no Instituto de Ciências Biológicas Herbário da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil (BHCB 159.398). Foram coletadas 172,44g das partes aéreas de *B. trimeria* e o método de extração utilizado foi maceração a frio (20% p/v) em etanol PA (Vetec, Brasil). Após a incubação, o extrato foi filtrado e concentrado num evaporador rotativo a 40 ° C sob pressão reduzida. Foram obtidos 4,79g do extrato seco após liofilização.

Para os testes antimicrobianos, primeiramente preparou-se um inóculo das bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus* ATCC 29.213, *Enterococcus faecalis* ATCC 19.433, *Staphylococcus saprophyticus* ATCC 15.305 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12.228) e Gram-negativas (*Klebsiella pneumoniae* ATCC 27.736, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27.853, *Escherichia coli* EHEC ATCC 43.895 e *Salmonella typhi* ATCC 19.430.

Assim, cada bactéria foi reativada do estoque, em caldo nutriente por

¹ Universidade Federal de São João Del-Rei (UFSJ) - Campus Centro-Oeste Dona Lindu, Divinópolis/MG, Brasil.

² Universidade Federal de São João Del Rei – Departamento de Farmacognosia - CEP 35.501-296 – Divinópolis/MG

* E-mail: rafaellascarvalho@yahoo.com.br

24h a 37°C e, posteriormente, semeadas em estrias compostas em placas de Petri contendo ágar Nutriente e incubadas por 24h a 37°C, para isolamento de colônias. Com o auxílio de uma alça de platina, para cada bactéria, retirou-se de 2 a 3 colônias isoladas, transferindo-as para um solução salina 0,85%. A turbidez da solução bacteriana obtida foi ajustada com uma solução padrão de MacFarland 0,5, o que representa aproximadamente 10⁸ UFC (Unidades Formadoras de Colônias). Posteriormente, foram realizadas as diluições seriadas, em salina tamponada, para o preparo do inóculo na concentração de 10⁶ UFC/mL.

Os experimentos foram realizados em triplicata e repetido três vezes para cada concentração do extrato e bactéria utilizada. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada utilizando a técnica de microdiluição em caldo. Uma alíquota de 125µL do inóculo foi adicionada a 25µL de cada concentração dos extratos em caldo MH (100µL) em placas de 96 poços. Os controles utilizados foram DMSO 20% (controle negativo), Estreptomicina 1,0mg/mL (controle positivo) e caldo Miller Hilton com inóculo (controle de crescimento). Poços contendo os extratos nas diferentes concentrações com o meio de cultura MH também foram utilizados. As placas foram incubadas a 37°C por 24h. A CIM foi avaliada com base na menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento microbiano (detectada como a falta de turbidez visível). As análises estatísticas foram realizadas por valores médios de absorção por meio do teste de variância seguindo teste de Tukey (p < 0,05).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após incubação a 37 °C/24h, foi feita a leitura com espectrofotômetro em 490nm. O CIM foi considerado como a menor concentração do extrato capaz de inibir mais de 80% do crescimento bacteriano. Neste estudo, o crescimento de todas as bactérias *Gram*-positivas foi inibido por *B. trimera*, sendo que a amostra *S. epidermidis* foi a que apresentou CIM na menor concentração testada (250µg/mL). *E. faecalis* e *S. aureus* apresentaram CIM

de 500µg/mL e *S. saprophyticus* apresentou CIM na concentração mais elevada, 1250µg/mL.

Nenhuma bactéria *Gram*-negativa apresentou inibição (CIM >1250µg/mL). As bactérias *Gram*-positivas apresentaram maior sensibilidade, indicando assim que *B. trimera* possui ação antimicrobiana seletiva quanto à estrutura bioquímica da parede celular bacteriana, podendo estar relacionado com o fato de que as bactérias *Gram* positivas exibem parede celular quimicamente menos complexa, com menor teor de lipídios devido à ausência de uma membrana externa quando comparadas com bactérias *Gram* negativas.³

Os resultados obtidos mostraram que a *B. trimera* possui um bom potencial de atividade antibacteriana frente bactérias *Gram*-positivas e cujos resultados podem apresentar subsídios para estudos posteriores do uso de compostos isolados desta espécie como futuros agentes antimicrobianos.

Tabela 1: Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do extrato hidroalcoólico bruto de *Baccharis trimera* (Less) em bactérias *Gram*-positivas e *Gram*-negativas

Bactérias	CIM (µg/mL)	
	Extrato seco de <i>B. trimera</i>	Estreptomicina
Gram-Positivas		
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228)	250	3,9
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213)	500	3,9
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 19433)	500	62,5
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> (ATCC 15305)	1250	1,95
Gram-Negativas		
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 27.736)	>1250	3,9
<i>Salmonella typhi</i> (ATCC 19430)	>1250	7,81
<i>Escherichia coli</i> EHEC (ATCC 43.895)	>1250	3,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	>1250	7,81

CONCLUSÕES

As bactérias Gram-positivas apresentaram maior sensibilidade, indicando assim que *B. trimera* possui ação antimicrobiana seletiva quanto à estrutura bioquímica da parede celular bacteriana. Os resultados obtidos mostraram um potencial de atividade antibacteriana frente bactérias Gram-positivas. Os resultados obtidos tornam-se uma opção importante para a prospecção de novas moléculas com propriedades antibióticas.

REFERÊNCIAS

- (1) SANTOS, N.Q. A Resistência Bacteriana No Contexto Da Infecção Hospitalar. **Texto Contexto Enferm.** 2004;13:64-70 .
- (2) ABAD, M.J; BERMEJO, P. Baccharis (Compositae): a **Review update.** **Arkivoc.** 2007;7:76-96
- (3) CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INTITUTE. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. Approved Standard—Sixth Edition **CLSI document M7-A6.** 2003;Wayne, Pa.