

## **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *BACCHARIS RETICULATA* FRENTE AS CEPAS DE BACTÉRIAS MDR**

Talysson Felismino Moura<sup>1</sup>, Priscilla Ramos Freitas<sup>1</sup>, Ana Carolina Justino de Araújo<sup>1</sup>, Ray Silva de Almeida<sup>1</sup>, Maria Milene Costa da Silva<sup>1</sup>, Maria Anésia Sousa de Alencar<sup>1</sup>, Cícera Laura Roque Paulo<sup>1</sup>, Saulo Rellison Tintino<sup>1</sup>, Henrique Douglas Melo Coutinho<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular, Universidade Regional do Cariri, email: talysson97f.moura@gmail.com, priscilla.r.freitas@hotmail.com, caroljustino@outlook.com, rayalmeidasilva2306@gmail.com, mariamilenecs@gmail.com, anesiaqsousa@hotmail.com, saulorelison@gmail.com, hdmcoutinho@gmail.com, lauraroquealencar@gmail.com.

### **RESUMO**

A resistência bacteriana tem sido considerada um problema de saúde pública, o que tem intensificado a busca por novas abordagens terapêuticas. Um dos principais patógenos oportunistas que apresenta vários mecanismos de resistência são as bactérias MDR (Multidrug-resistant). Diante disso, o objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antibacteriana e modificadora da ação dos antibióticos, do composto  $\alpha$ -pineno e do óleo essencial de *Baccharis reticulata* frente a cepas de MDR. Foi realizada a técnica de Cromatografia Gasosa associada a Espectrometria de Massa (CG/EM) para a revelação dos principais componentes do óleo: dilapiol (33,8%),  $\alpha$ -pineno (31,7%) e  $\beta$ -pineno (9,4%). A Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo essencial mostrou resultados significativos apenas para a cepa de *S. aureus* (256 $\mu$ g/mL). Em relação a potencialização da atividade antibacteriana, o óleo essencial apresentou sinergismo quando associado ao Norfloxacino e a Gentamicina frente a todas as cepas testadas. Já em relação ao  $\alpha$ -pineno houve um aumento da atividade frente à cepa de *E.coli*, quando associado ao Norfloxacino, e contra as bactérias multiresistentes, houve sinergismo com os antibióticos Norfloxacino e Gentamicina. Desta forma, foi demonstrado que OEBr possui uma atividade antibacteriana, bem como o seu composto  $\alpha$ -pineno, tanto de forma direta quando em associação a antibióticos já utilizados na clínica atualmente.

Palavras-chave: *Baccharis reticulata*. MDR (Multidrug-resistant).

## 1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais para fins terapêuticos é uma prática comum há milhares de anos<sup>1</sup>. Nesse contexto, a associação de estudos etnobotânicos e etnofarmacológicos pode ser uma estratégia para combinar o conhecimento popular e estudos científicos, aumentando as perspectivas de sucesso na descoberta de novos compostos bioativos<sup>2</sup>.

O gênero *Baccharis* L. (Asteraceae) é representado por 179 espécies no Brasil<sup>3</sup>, que são utilizadas na medicina popular como agentes analgésicos, antiinflamatórios, diuréticos, redutores de glicemia e antiespasmódicos<sup>4-5</sup>.

Estudos presentes na literatura relatam atividade bactericida do óleo essencial de *Baccharis* L. contra cepas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*<sup>10,12</sup>. O  $\alpha$ -pineno, presente no óleo essencial de *Baccharis reticulata* é um monoterpene com atividade fungicida e, é utilizado há muitos anos para produzir fragrâncias<sup>13</sup>. Silva et al. (2012)<sup>14</sup> relataram atividade antimicrobiana deste composto, bem como a interação sinérgica com antimicrobianos comerciais.

As infecções bacterianas têm sido um dos principais problemas de saúde pública ao longo dos anos. A descoberta dos antibióticos garantiu o controle desse problema, porém o uso indevido desses medicamentos tem tornado os microrganismos cada vez mais resistentes<sup>15-16</sup>. A resistência bacteriana acontece de diversas formas: como uma característica intrínseca da espécie, como resultado de mutações ou por meio de transferência gênica horizontal<sup>17</sup>.

## 2. OBJETIVO

Diversos estudos têm sido realizados para avaliar a atividade inibitória do crescimento bacteriano de óleos essenciais de espécies de *Baccharis* L., entretanto não há relatos na literatura considerando o óleo essencial de *Baccharis reticulata* contra bactérias Gram-positivas e/ou Gram-negativas. Portanto, diante do exposto este trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antibacteriana do OEBr frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

### 3.METODOLOGIA

O material vegetal usado para extração de óleo essencial consistiu de ramos terminais e/ou inflorescências coletados na “Reserva Particular do Patrimônio Natural” (RPPN), um segmento de Mata Atlântica no Estado do Paraná, Sul do Brasil. Os exemplares secos foram herborizados e depositados no Herbário das Faculdades Integradas Espirita (HFIE), sendo tombadas no acervo sob nº HFIE 8.252.

Foram utilizadas cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus* 10, *Pseudomonas aeruginosa* 24 e *Escherichia coli* 06, o qual a sua origem e o perfil de resistência

Foi pesado 10 mg do óleo essencial e colocado em *eppendorfs* individualizados, diluídos em 0,5 mL de DMSO. Essa primeira solução foi colocada em um tubo falcon e acrescentado mais 9,265 mL de água destilada estéril, perfazendo um total de 9,765 mL de solução com concentração de 1024 µg / mL para cada óleo essencial. Essa solução foi utilizada para os testes de concentração inibitória mínima (CIM) e modificação da atividade antibacteriana.

Foi realizado um arrasto de cada cultura microbiana e diluído em tubos de ensaio contendo solução salina estéril, em triplicata. Após esse procedimento, foi testada a turbidez da solução com um controle de 0,5 da escala de *McFarland*. Foram preparados *Eppendorfs*, em triplicata para cada bactéria, contendo 900µL de BHI líquido a 10% + 100µL do inóculo (correspondente a 10% da solução total) para a CIM<sup>22</sup>. Os antibióticos utilizados nos testes foram Eritromicina e Gentamicina na concentração inicial de 1024 µg/mL.

Foram adicionados 100µL da solução final dos inóculos em cada poço da placa contendo 96 poços, em seguida realizada a microdiluição seriada com a solução de 100µL do óleo essencial, por coluna, variando nas concentrações de 512µg/mL no primeiro poço a 8µg/mL no último poço.

Para verificar a ação do óleo essencial sobre a atividade antibiótica frente às cepas testadas, foi utilizado o método proposto por Coutinho et al. (2010)<sup>27</sup>. Foram preparados tubos *eppendorf* contendo o óleo essencial em volume correspondente à concentração sub-inibitória (CIM/8), quantidade de BHI 10 % variável de acordo com o volume da concentração sub-inibitória e 150µL da suspensão bacteriana (correspondente a 10% da solução).

Os resultados foram expressos em média aritmética  $\pm$ desvio padrão, avaliados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA) seguido pelo pos-test *Bonferroni* utilizando o software *GraphPad Prism*, as diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O rendimento das amostras secas do OERBr foi 0,52%. 43,4% são caracterizados como sesquiterpenos, enquanto os monoterpenos apresentam como componentes principais (56,6%). Sendo que o componente majoritário é o dilapiol (33,8%), seguido do  $\alpha$ -pineno (31,7%) e  $\beta$ -pineno (9,4%).

Em relação a outros estudos realizados com o gênero *Baccharis*, foi destacado a grande quantidade de monoterpenos a partir da comparação da composição química de óleos essenciais de seis diferentes espécies, dentre estas, todas possuíram alta proporção de monoterpenos, com exceção da espécie *B. dracunculifolia* que apresentou apenas 0,30%<sup>28</sup>. De acordo com Kurddelas et al.<sup>29</sup>, o óleo essencial *B. darwinii*, possui em sua composição, alta concentração de monoterpenos (66%), apresentando como composto majoritário o limoneno (47,1%). Por outro lado, em um estudo com *B. uncinella*, mostrou uma elevada proporção de sesquiterpenos (60,8%), e como componente majoritário o espatulenol, seguido do limoneno<sup>30</sup>.

Em relação a modificação da atividade antibacteriana do OEBr contra as cepas de *P. aeruginosa* 24, que é demonstrado o sinergismo do óleo com a associação aos antibióticos Norfloxacino, o qual foi observado uma redução de 50,7 $\mu$ g/mL para 16 $\mu$ g/mL, e Gentamicina, que houve redução da CIM de 16 $\mu$ g/mL para 8 $\mu$ g/mL. O OEBr também mostrou um sinergismo frente a cepa *E. coli* 06, quando associado a Norfloxacino, que houve diminuição da concentração de 60 $\mu$ g/mL para 16 $\mu$ g/mL, e para Gentamicina houve a redução de 32 $\mu$ g/mL para 16 $\mu$ g/mL. Da mesma forma, contra a cepa de *S. aureus* 10, que com associação a Norfloxacino reduziu a CIM de 512 $\mu$ g/mL para 406 $\mu$ g/mL, e com Gentamicina reduziu de 128 $\mu$ g/mL para 40 $\mu$ g/mL. Em todos os casos não houve resultados significativos quando associado ao antibiótico Penicilina.

Essa atividade, pode ocorrer por conta dos terpenos, provenientes do óleo essencial, que possuem a capacidade de alterar a permeabilidade e funções da membrana bacteriana<sup>39</sup>.

#### 4. CONCLUSÃO

O OEBr mostrou atividade antibacteriana contra a cepa multirresistente de *S. aureus*. E quando associado a antibióticos, mostrou ação com a associação com Norfloxacin e Gentamicina contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. Desta forma, a atividade do óleo essencial pode ser relacionada aos compostos majoritários presentes: Dilapiol,  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno. Desta forma, se faz necessário a realização de mais estudos que possam comprovar a atividade antibacteriana da planta.

#### REFERÊNCIAS

1. **Souza CM, Brandão DO, Silva MSP, Palmeira AC, Simões MOS, Medeiros ACD.** Utilização de plantas medicinais com atividade antimicrobiana por usuários do serviço público de saúde em Campina Grande - Paraíba. *Rev Bras Plant Mes* 2013; 15: 188–193.
2. **Medeiros PM, Ladio AH, Santos AMM, Albuquerque UP.** Does the selection of medicinal plants by Brazilian local populations suffer taxonomic influence? *J Ethnopharmacol* 2013; 146: 842–852.
3. **Campos FR, Bressan J, Jasinski VCG, Zuccolotto T, da Silva LE, Cerqueira LB.** *Baccharis* (Asteraceae): Chemical Constituents and Biological Activities. *Chem Biodivers* 2016; 13: 1–17.
4. **Negreiros MO, Pawlowski A, Zini CA, Soares GLG, Motta AS, Frazzon APG.** Antimicrobial and antibiofilm activity of *Baccharis psiadioides* essential oil against antibiotic-resistant *Enterococcus faecalis* strains. *Pharm Biol* 2016; 54: 3272–3279.
5. **Silva ACR, Lopes PM, Azevedo MMBM, Costa DCM, Alviano CL, Alviano DS.** Biological Activities of  $\alpha$ -Pinene and  $\beta$ -Pinene Enantiomers. *Molecules* 2012;17: 6305-6316.
6. **Leite AM, Lima EDO, Souza ELD, Diniz MDFFM, Trajano VN, Medeiros IAD.** Inhibitory effect of beta-pinene, alpha-pinene and eugenol on the growth of potential infectious endocarditis causing Gram-positive bacteria. *Rev Bras Cienc Farm* 2007; 43: 121-126.