

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: “Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação”

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E POTENCIALIZADORA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *ALOYSIA GRATÍSSIMA* (GILLIES & HOOK) SOBRE CEPAS MULTIRRESISTENTES

Cicera Laura Roque Paulo¹, Eduardo Lourenço Santos², Ana Carolina Justino de Araújo², Priscilla Ramos Freitas², Ray Silva de Almeida², José Bezerra de Araújo Neto², Saulo Relison Tintino², Henrique Douglas Melo Coutinho³.

Resumo: A resistência bacteriana é um grande problema de saúde pública. Desse modo, a combinação de antibióticos a terapias alternativas, como o uso de produtos naturais, apresenta-se como uma opção propícia. Objetivou-se avaliar a atividade antibacteriana e potencializadora do óleo essencial de *Aloysia gratissima* e seu potencial modificador da ação de antibióticos contra cepas bacterianas multirresistentes. A avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial, foi realizado através do método de microdiluição em caldo utilizando as cepas *Staphylococcus aureus* 10, *Pseudomonas aeruginosa* 24 e *Escherichia coli* 06. Na análise do potencial modificador da ação antibiótica foi utilizado o produto em concentração sub-inibitória (CIM/8) juntamente com os antibióticos norfloxacina, eritromicina e gentamicina. Obteve-se uma ação potencializadora na redução da CIM aproximadamente em 6 vezes contra as cepas de *S.aureus*. Conclui-se que o óleo essencial de *Aloysia gratissima* possui eficácia na ação direta contra *Staphylococcus aureus* 10.

Palavras-chave: Resistência bacteriana. Óleo essencial. *Aloysia gratissima*.

1. Introdução

Com o grande avanço científico e tecnológico, muitos fármacos foram desenvolvidos para as diversas infecções causadas por bactérias (RANG, 2001). Com o grande avanço médico de século XX, ocorreu uma melhora na expectativa de vida das pessoas. (JIANG et al., 2020; YANG et al., 2020). Diante disso, ocorreu um desenfreado consumo de antibióticos, contribuindo assim, para que as bactérias desenvolvessem mecanismos de resistências (VARALDO, 2012).

1 Universidade Regional do Cariri, email: laura.roque@urca.br

2 Universidade Federal do Cariri, email:

3 Universidade Federal do Cariri, email: hdmcoutinho@.br

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

A utilização de produtos naturais vem crescendo com o desenvolvimento e estudos e tornando-se um grande aliado no retrocesso da resistência bacteriana. (ARAÚJO et al., 2020). Importante ressaltar a utilização de óleos essenciais, visto que sua utilização torna-se um ativador na fabricação de muitos medicamentos, como os antibióticos. (CARVALHO et al., 2014).

A *Aloysia sp* faz parte da família Verbenaceae e cresce em regiões tropicais e subtropicais. (ZENI et al., 2014).

No Brasil, é utilizada para analgesia, substância expectorante, infecções e afecções pulmonares e comumente utilizada como substância antimicrobiana. (FRANCO et al., 2007; SANTOS et al., 2009).

2. Objetivo

Avaliar a atividade antibacteriana do óleo essencial de *Aloysia gratissima* frente a cepas multirresistentes.

3. Metodologia

Para identificação da constituição química do óleo, foi realizada por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM). O óleo foi diluído em diclorometano na proporção de 1% e 1 µL da solução, foi injetada, com divisão de fluxo 1:20 no cromatógrafo Agilent 6890 (Palo Alto, CA) acoplado ao detector seletivo de massas Agilent 5973N.

Para esse estudo, 10 mg do óleo essencial e dos antibióticos (norfloxacina, eritromicina e gentamicina) foram diluídos em 1 mL de DMSO e 8,765 mL de água destilada para ter a concentração de 1.024 µg/mL. Foram utilizadas as linhagens bacterianas *Pseudomonas aeruginosa* 24, *Staphylococcus aureus* 10 e *Escherichia coli* 06. Nas 24h que antecedem os testes, as cepas bacterianas foram semeadas em placas de Petri contendo Heart Infusion Agar (HIA) e mantidas em estufa a 37 °C para crescimento. Após esse período, um pequeno arrasto bacteriano foi diluído em tubos de ensaio contendo solução salina estéril, em triplicata. A turbidez da solução foi comparada com a escala de McFarland 0,5 (COUTINHO et al., 2008).

Para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), foi preparado o meio de distribuição em *ependorfs* utilizando 100 µL do inóculo em 900 µL do meio de cultura líquido BHI. O conteúdo dos *ependorfs* foi transferido para placas de microdiluição. A próxima etapa seguiu com realização da microdiluição das substâncias, com concentração de 1.024 µg/mL, sendo 100 µL nesse meio até penúltima cavidade. Os testes foram realizados em triplicata. As placas foram incubadas a 35 ± 2 °C, durante 24 h. Após esse período, as placas foram reveladas com corante específico, a resazurina. Considera-se positivo para os poços que não apresentaram crescimento microbiano, ou seja, permaneceram com a coloração azul e negativa os que obtiveram coloração rosa (SALVAT et al, 2001).

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

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

4. Resultados

Os valores da atividade antibacteriana, estão demonstrados na tabela 1.

Tabela 1: Concentração Inibitório Mínima (CIM) do OEAG.

Cepas Bacteriana	CIM ($\mu\text{g/mL}$) OEAG
<i>Escherichia coli</i> 6	≥ 1024
<i>Staphylococcus aureus</i> 10	32
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 24	≥ 1024

Araújo et al. (2020) ao analisar a atividade antibacteriana do composto limoneno, que também é um terpeno, indicou que esse produto também possui CIM de 1.024 $\mu\text{g/mL}$ contra *E. coli* 06 e *P. aeruginosa* 24, corroborando os resultados do presente estudo. O resultado com *S. aureus* 10 pode ser explicado pela estrutura de sua parede celular, mais simples que a parede celular de Gram-negativos (LOGUERCIO et al., 2005).

Após a etapa de verificação da atividade antibacteriana do óleo essencial da *Aloysia gratissima*, foi analisada a potencialização da ação associada a antibióticos convencionais. Essa ação foi realizada com as cepas de *Escherichia coli* 6 (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* 10 (*S. aureus*) e *Pseudomonas aeruginosa* 24 (*P. aeruginosa*). Observa-se na figura 1 que houve ação de potencialização do OEAG com norfloxacin contra os três microrganismos analisados (com significância igual a $p < 0,0001$).

Obteve-se uma ação potencializadora na redução da CIM aproximadamente em 6 vezes contra as cepas de *S. aureus*. Em Relação a *E. coli* houve uma redução da CIM do OEAG de 32 $\mu\text{g/mL}$ para 2 $\mu\text{g/mL}$ quando associada com o citado antimicrobiano. A combinação de uma concentração subinibitória do OEAG com norfloxacin contra *P. aeruginosa* mostrou uma atividade inibitória em aproximadamente 10 vezes, reduzindo consideravelmente a CIM. Todos os resultados obtidos mostraram significância com $p < 0,0001$. No entanto o óleo não apresentou efeito modulador da gentamicina e eritromicina

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

contra as cepas bacterianas utilizadas no estudo. A figura 1 abaixo mostra os resultados obtidos.

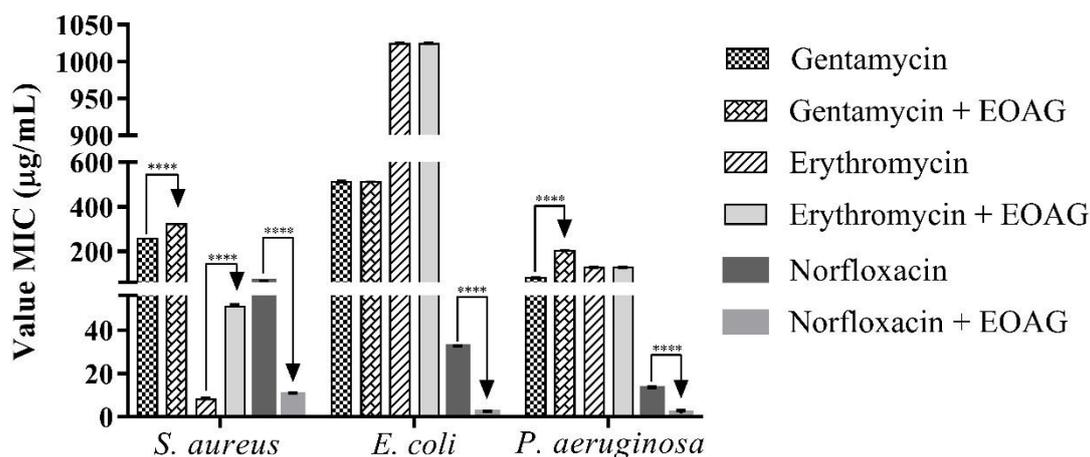


Fig 1: Atividade moduladora de antibiótico do óleo de *A. gratissima* em associação com gentamicina, eritromicina e norfloxacin contra cepas multirresistentes de *E. coli* 6, *S. aureus* 10 e *P. aeruginosa* 24. **** $p < 0,0001$.

5. Conclusão

Pode-se concluir que o óleo essencial de *Aloysia gratissima* não possui atividade antibacteriana intrínseca contra *Escherichia coli* 06 e *Pseudomonas aeruginosa* 24. Mas possui eficácia na ação direta contra *Staphylococcus aureus* 10.

6. Agradecimentos

Ao Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular (LMBM) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

7. Referências

ARAÚJO, A. C. J. et al. GC-MS-FID characterization and antibacterial activity of the Mikania cordifolia essential. **Food end chemical toxicology**, vol 136, 2020.

CARVALHO, A. F. et al. Avaliação da atividade antibacteriana de extratos etanólico e de ciclohexano a partir das flores de camomila (*Matricaria chamomilla* L). **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 16, n. 3, p. 521-526, 2014.

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

COUTINHO, H. D. M et al. Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. **Chemotherapy**, v. 54, n. 4, p. 328-330, 2008.

FRANCO, A. L. P. et al. Avaliação da composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Aloysia gratissima* (gillies & hook) tronc. (alfazema), *Ocimum gratissimum* L. (alfavaca-cravo) e *Curcuma longa* L. (açafraão). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, n. 2, p. 208-228, 2007.

JIANG, D. et al. Total synthesis of three families of natural antibiotics: Anthrabenzoxocinones, fasamycins/naphthacemycins, and benastatins. **CCS Chemistry**, v. 2, n. 6, p. 800-812, 2020.

LOGUERCIO, A. P. et al. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jabolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência rural**, v. 35, n. 2, p. 371-376, 2005.

RANG, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M.; **Farmacologia**, 4a ed., Guanabara Koogan S.A.: Rio de Janeiro, 2001.

SALVAT, A. et al. Screening of some plants from North Argentina for their antimicrobial activity. **Letters in Applied Microbiology**, v. 32, n. 5, p. 293-297, 2001.

SANTOS, F. M. et al. Produção de mudas de *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc. por meio da propagação sexuada e assexuada. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 2, p. 130-136, 2009.

VARALDO, P. E.; J. **Antimicrob. Chemother.** 2002, 50, 1.

YANG, B. et al. Overview of antibiotic resistance genes database. **Chinese Journal of Biotechnology**, v. 36, n. 12, p. 2582-2597, 2020.

ZENI, A. L. B. et al. *Aloysia gratissima* prevents cellular damage induced by glutamatergic excitotoxicity. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 66, n. 9 p. 1294-1302, 2014.