

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA ESPÉCIE VEGETAL *Mikania glomerata Sprengel* CULTIVADA NO HORTO DE PLANTAS MEDICINAIS EM UMA FACULDADE DE FORTALEZA

EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE VEGETABLE SPECIES *Mikania glomerata Sprengel* CULTIVATED IN THE MEDICINAL HERBS GARDEN FROM A COLLEGE OF FORTALEZA

Naira Lima Silva

Discente do Curso de Farmácia no Centro Universitário Fametro (UNIFAMETRO).

Andréa Bessa Teixeira

Docente dos cursos de Farmácia, Enfermagem e Fisioterapia no Centro Universitário Fametro (UNIFAMETRO).

RESUMO

Popularmente conhecida como guaco, a *Mikania glomerata* é uma espécie encontrada no Brasil, principalmente na região nordeste. É uma planta medicinal bastante utilizada na forma de chás e xaropes para o tratamento de enfermidades respiratórias. O interesse pela busca de novos agentes terapêuticos tem estimulado pesquisas com plantas medicinais, pois muitas delas podem apresentar propriedade antimicrobiana, permitindo ser mais uma alternativa de tratamento de doenças infecciosas e representando um excelente ponto de partida na busca de compostos farmacologicamente ativos. Nesse contexto, foi desenvolvido um projeto de pesquisa de Iniciação Científica que visa contribuir para o conhecimento da atividade antimicrobiana das espécies vegetais cultivadas no Horto de Plantas Medicinais. Como parte inicial, foi avaliada a atividade antimicrobiana da *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 hidroalcoólica, tanto de folhas jovens como adulta, e a infusão das folhas da *M. glomerata*.

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

ABSTRACT

Popularly known as guaco, the *Mikania glomerata* is a species found in Brazil, mainly in its Northeast region. It is a medicinal herb commonly used as tea and syrup for breathing infirmities treatments. The interest on the finding of new therapeutic agents has stimulated the research on medicinal herbs, because many of them can present antimicrobial property, allowing a new alternative treatment on infectious diseases and representing an excellent starting point on the search of pharmacologically active compounds. Given the background, the development of a research project of Scientific Initiation was carried out, aiming on the contribution for the knowledge of antimicrobial activity of vegetables species cultivated in the Medicinal Herbs Garden. As starting point, the antimicrobial activity of the *Mikania glomerata* on microbial strains originated from the American Type Culture Collection (ATCC) was reviewed. The antimicrobial activity was carried out through the agar diffusion technique, modified. The results showed that there was not an inhibition on the growing of any microbial strains tested, while alcohol-water tincture was being used, considering young and adult leaves, and infusion of the *M. glomerata* leaves.

Keywords: Medicinal Herbs. Antimicrobial Activity. *Mikania glomerata*.

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais para tratamento de doenças e males vem desde a antiguidade e até hoje continua sendo alvo de várias pesquisas na tentativa de descobrir novos compostos com potenciais biológicos (CZELUSNIAK *et al.*, 2012). A Organização Mundial de Saúde (OMS) define plantas medicinais como uma espécie vegetal, cultivada ou não, utilizada com propósitos terapêuticos, capazes de curar ou prevenir enfermidades (BRASIL, 2016).

O Brasil é um país de maior biodiversidade de plantas que, atrelado a uma ampla diversidade étnica e cultural, possui um importante conhecimento tradicional agregado ao uso de plantas medicinais. A OMS reconhece que a maior parte da população nos países em desenvolvimento depende da medicina tradicional para sua atenção primária, tendo em vista que 80% desta população utilizam práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde e 85% destes utilizam plantas ou preparações provenientes de espécies vegetais (OMS, 2013).

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 ten-

dência 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 diminuí 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 do Programa de Monitoria e Iniciação Científica – PROMIC de uma faculdade particular da cidade de Fortaleza-CE, no qual visa contribuir para o conhecimento da atividade antimicrobiana das espécies vegetais cultivadas no Horto de Plantas Medicinais, 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, sendo selecionada a *Mikania glomerata*. Após desse levantamento, tendo como fruto a elaboração de um artigo publicado em um evento local, deu prosseguimento a seguinte etapa do projeto de pesquisa, 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.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de uma pesquisa do tipo experimental, quantitativa e de caráter exploratório, iniciada em 2016 e ainda em desenvolvimento. As amostras de folhas da espécie *M. glomerata* foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais de uma Faculdade particular da cidade de 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 referida Faculdade. 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.

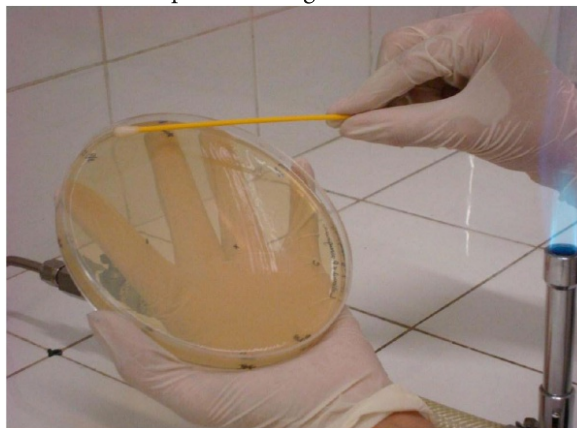
A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada no Laboratório de Análises Clínicas, segundo o método de difusão em ágar (CLSI, 2003), modificado. Foram utilizadas cinco cepas microbianas provenientes da *American Type Culture Collection* (ATCC):

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 x 10⁸ UFC/mL.

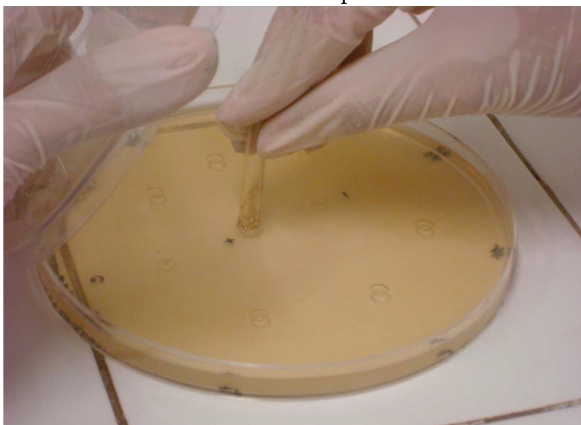
Com auxílio de *swabs* estéreis, essas suspensões foram semeadas na superfície do ágar *Mueller-Hinton* (bactérias) e ágar *Sabouraud dextrose* (levedura), em três direções, para que fosse obtido um crescimento confluyente e homogêneo (Foto 1). Após 5 minutos, foram confeccionados poços de 6 mm de diâmetro 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 hidroalcoólica das folhas da *M. glomerata* (Foto 3). Antibiótico comercial Amicacina 1,2mg/mL foi utilizado como controle positivo e o diluente da amostra vegetal, como controle negativo.

Figura 01 - Técnica de semeadura das suspensões microbianas na superfície do ágar *Mueller-Hinton*.



Fonte: Teixeira (2009).

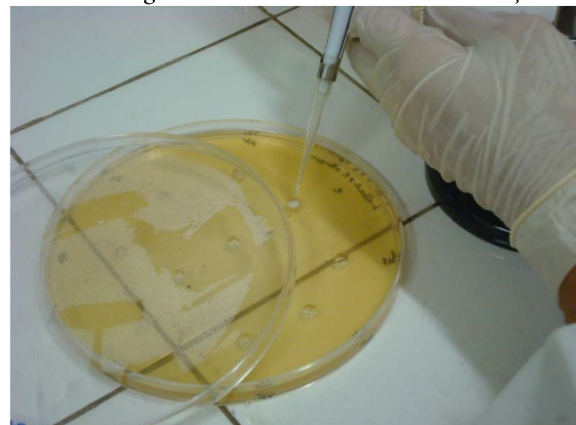
Figura 02 - Confeção dos poços interno no ágar *Mueller-Hinton* com auxílio de um perfurador estéril.



Fonte: Teixeira (2009).

Após 18h de incubação a 35°C, cada placa foi analisada e realizada a medida dos halos de inibição (HI) de crescimento, como auxílio de uma régua. Os diâmetros dos HI foram mensurados, incluindo o diâmetro do poço. Esses ensaios foram realizados em duplicata. Os valores dos HI foram as medias dos dois resultados e nos forneceu informações sobre o potencial inibitório da espécie *M. glomerata* sobre as cepas testadas.

Figura 03 - Aplicação da tintura hidroalcoólica das folhas de *M. glomerata* em diferentes concentrações.



Fonte: Teixeira (2009).

3 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.

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	-	-	-

Fonte: dados da pesquisa.

(-): Não formou halo de inibição de crescimento microbiano.

Como demonstrado na tabela acima, a amostra vegetal 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*.

A foto a seguir ilustra o resultado da atividade antimicrobiana em uma das cepas testadas, mostrando que a espécie vegetal não inibiu o crescimento do micro-organismo *K. pneumoniae*, quando testados em diferentes concentrações da tintura hidroalcoólica da *M. glomerata*.



Figura 04 - Ensaio de difusão em ágar da tintura hidroalcoólica das folhas da *M. glomerata* sobre a cepa *K. pneumoniae* ATCC 10031.

Fonte: dados da pesquisa.

(-): controle negativo: diluente da amostra vegetal; (+): controle positivo: Amicacina 1,2mg/mL.

Os resultados dessa pesquisa são diferentes 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 10mg/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 micro-diluição 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, como a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e letal mínima (CLM). A CIM e CLM têm como finalidade fornecer a menor concentração da amostra testada que é capaz de inibir completamente e matar o crescimento microbiano, respectivamente (NASCIMENTO *et al.*, 2000). Essas etapas propostas inicialmente no projeto de pesquisa científica não foram realizadas até o momento, constituindo objeto de Trabalho de Conclusão de Curso da discente do Curso de Farmácia, 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.

4 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 determinação da CIM e CLM, para se obter total informação quanto essa referida atividade biológica.

Além disso, a presente pesquisa propiciou a formação do discente na sua trajetória acadêmica, ampliando seus conhecimentos nas técnicas utilizadas para determinação da atividade antimicrobiana, além de auxiliar na formação profissional na área de plantas medicinais, contribuindo para que o discente possa atuar em todos os níveis de atenção à saúde, com base no rigor científico e intelectual.

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, 12 dezembro. 2008.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Práticas integrativas e complementares**: plantas medicinais e fitoterapia na atenção básica. Brasília: Ministério da Saúde, 2012.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.
- 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 LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 6 ed: [S.l.]: M7-A6, 2003.
- CZELUSNIAK, K. E. *et al.* Farmacobotânica, fitoquímica e farmacologia do Guaco: revisão considerando *Mikania glomerata* Sprengel e Schulz Bip. ex Baker. **Revista Brasileira Plantas Medicinais**, 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. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2003.

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.

NASCIMENTO, G.G.F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P.C.; SILVA, G.L. Antibacterial activity of extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Braz. J. Microbiol.** v.31, n.4, p.247-256, 2000.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. **Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023**. 2013. Disponível em: <<http://www.who.int/iris/handle/10665/95008>>

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**, v. 94, n. 2, p. 120-129, 2013.

STEPHENS, P. Para OMS, resistência de bactérias a antibióticos é 'ameaça global'. **BBC Brasil**. [online]: 2014. Disponível em: <http://www.bbc.co.uk/portuguese/noticias/2014/04/140430_resistencia_anti_bioticos_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**. 10 ed. Porto Alegre, Artmed, 2012.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Ceará por ter doadas as cinco cepas microbianas provenientes da *American Type Culture Collection* (ATCC).