

COMPARAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE CONFREI- *Symphytum officinale* E AGENTES QUÍMICOS.

Silas Osório de **REZENDE** (IC- silas_rezende@yahoo.com.br)¹ Wellington Vicente **BRAGA**², Marina Sodré **BRAGA**¹, Fernanda Mara **FERNANDES(PQ)**³ e Alexandre Horácio C **BITTENCOURT (PQ)**⁴

1. Alunos do curso de Biomedicina da Faculdade de Minas (FAMINAS), Muriaé, MG;
2. Farmacêutico na Assistência e atenção farmacêutica, Rio de Janeiro, RJ;
3. Mestre em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG; professora da Faculdade de Minas (FAMINAS), Muriaé, MG;
4. Mestre em Botânica pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG; coordenador de Pesquisa e professor da Faculdade de Minas (FAMINAS), Muriaé, MG.

RESUMO: Os agentes químicos com atividade antimicrobiana pertencem aos álcoois e aos grupos quaternários de amônio. Todavia com os avanços da biotecnologia e da química sintética, estudos têm levado a uma revisão sobre as propriedades antimicrobianas de diferentes espécies vegetais. O presente estudo teve como objetivo, comparar a atividade antimicrobiana de extratos de *Symphytum officinale* e agentes químicos comercializados em cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Os bioensaios foram conduzidos no laboratório da FAMINAS- Muriaé- MG. Para a análise do controle positivo verificou-se a presença de crescimento bacteriano e no controle negativo verificou-se a não ocorrência de crescimento bacteriano.

Palavras-Chave: Antimicrobianos, extratos, agentes químicos.

INTRODUÇÃO

O ideal para um agente químico antimicrobiano é que possua ação mantida sob as mais variadas condições, como a estabilidade, solubilidade e tempo de contato com o microrganismo. Os desinfetantes mais utilizados pertencem aos álcoois e os compostos quaternários de amônio, através da ação de desnaturação de proteínas presentes nas células e os halogênios cuja ação reside na oxidação de substâncias celulares vitais (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1996).

Os desinfetantes possuem um largo espectro de atividade antimicrobiana podendo ser utilizados em vários locais, como indústrias de processamento de alimentos, bebidas, farmacêutica e médico-hospitalar. Seu uso na área hospitalar e em outros serviços de saúde tem grande importância devido às suas propriedades bactericidas, virucidas e fungicidas (SOUZA; DANIEL, 2005).

Segundo Reis (2001), é importante conhecer a real atividade antimicrobiana dos antissépticos e desinfetantes usados em serviços de saúde.

Um estudo realizado por Reis et al. (2001), analisou a atividade antimicrobiana e a estabilidade química de três diferentes antissépticos e um desinfetante, ambos utilizados no serviço de atenção primária à saúde. As análises foram divididas em dias alternados, e após a abertura dos frascos, verificou-se que as amostras mantiveram sua atividade antimicrobiana *in vitro* em relação às cepas padronizadas, evidenciadas pela ausência de crescimento de unidades formadoras de colônias (UFC).

Apesar dos avanços da biotecnologia e da química sintética, várias linhas de pesquisas têm sido desenvolvidas por pesquisadores baseadas nas propriedades antifecciosas e antiinflamatórias de diversos fitoterápicos utilizados na medicina popular, podendo contribuir na terapêutica antimicrobiana e conferindo seus reais valores na terapia, pois a flora brasileira possui um número grande de espécies vegetais nativas que são consideradas medicinais, mas muitas ainda não tiveram qualquer avaliação científica do seu uso medicinal, o que é essencial para que possam continuar a serem utilizadas com segurança pela população (MACHADO, 2005; PEREIRA, 2008)

De acordo com Machado (2005), estudos apontam que cerca de 25% dos fármacos utilizados são de origem vegetal e 50% são de origem sintética, mas sempre em relação com princípios de plantas medicinais.

Entre o seleto grupo de plantas com propriedades fungicida, antiinflamatória e cicatrizante está o *Symphytum officinale* (Confrei) (PEREIRA et al. 2008). Segundo Oliveira

(2009), é um fitoterápico utilizado em grande escala na medicina popular, pertencente à família Boraginaceae; tendo em sua composição química os alcalóides pirrolizidínicos, além da alantoína, taninos e esteróides.

Entre os vários microrganismos que podem ser testados, encontramos a bactéria patogênica *Staphylococcus aureus*; bactéria gram-positiva que causa intoxicação alimentar. Sua principal via de transmissão é através de manipuladores de alimentos; estes manipuladores podem, eventualmente, inocular o microrganismo através, por exemplo, de secreções nasais em alimentos preparados e sem refrigeração. Neste caso a *S. aureus* pode se reproduzir e produzir uma toxina conhecida como estafilocócica que provoca um quadro de intoxicação alimentar nos indivíduos que ingerirem o alimento contaminado (CRUZ; PEREIRA, 2010).

Segundo Silva (2003) outra bactéria importante é a *Escherichia coli* que habita normalmente o trato-intestinal exercendo um efeito benéfico sobre o organismo. Porém algumas cepas de *E.coli*, são capazes de provocar doenças em indivíduos humanos, coletivamente chamadas de *E.coli* enteropatogênicas (EEC). Em casos mais graves, essa bactéria pode causar até colite hemorrágica (SILVA et al. 2003).

Baseando na presença de microrganismos resistentes, o presente estudo teve como objetivo, comparar a atividade antimicrobiana de extratos de *Symphytum officinale* (Confrei) e agentes químicos comercializados em cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os bioensaios foram conduzidos no laboratório de Microbiologia e Farmacotécnica da Faculdade de Minas - FAMINAS- Muriaé- Minas Gerais.

1.1- Coleta das amostras

Os produtos químicos foram adquiridos em estabelecimentos da cidade de Muriaé – Minas Gerais; amostras de dois agentes químicos: A1 – Álcool etílico 96° gL; A2 – cloreto de dialquil dimetil amônio 0,50%, cloreto de alquil dimetil dimetil benzil amônio 0,50%, cloreto de cetil trimetil amônio 0,35%.

1.2- Preparo dos Extratos das Plantas

Para o preparo dos extratos, foi utilizada a planta *Symphytum officinale* adquirida da Empresa Santos Flora (São Paulo, São Paulo, Brasil), com laudo de análise correspondente. Os extratos foram divididos em: A3- (extrato hidroalcoólico) e A4 -(extrato glicólico).

Para a realização do extrato hidroalcoólico, a planta foi macerada até chegar ao estado de pó submetendo-se ao processo de diluição em álcool absoluto e água destilada; obtendo um extrato hidroalcoólico (COUTINHO et al. 2006).

O extrato glicólico foi obtido através da técnica de maceração em solvente hidroglicólico, neste caso o propilenoglicol e água destilada (ARDISSON et al. 2002).

1.3-Reativação das bactérias

Para reativação das linhagens de *S. aureus* e *E. coli*, foi utilizado o meio BHI - Brain Heart Infusion (líquido) por 24 h à 37°C. Realizou a padronização 10^6 ufc/mL.

Em seguida foram testados os produtos puros, representando o grupo controle, e procedeu-se a diluição em tubos (1:10 e 1:40). Adicionou 25 mL dos produtos/extratos em tubos, desafiando os microrganismos em pautas *in vitro*. Aguardaram-se três, cinco e doze minutos do material em contato com os microrganismos e foi transferida uma alíquota de 10µL desse material para tubos contendo caldo nutriente estéril. Realizou-se a semeadura para controle positivo e negativo em meio ágar BHI. Após 24 horas de incubação a 37°C foram analisados os resultados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a análise do controle positivo verificou-se a presença de crescimento das bactérias e para a análise do controle negativo verificou-se a não ocorrência de crescimento bacteriano. De acordo com a Tabela A, o sinal positivo indica que houve crescimento bacteriano e o negativo indica ausência de crescimento bacteriano. Os produtos 100% puros representaram o grupo controle. O produto A2 em ambas as cepas, foi efetivo em todos os testes como agente inibitório, os extratos A3 e A4 frente à *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente, na diluição de 1:40 não apresentaram efeito inibitório. Assim como podem ser vistos na tabela abaixo:

Tabela A. Potencial Antimicrobiano

<i>Escherichia coli</i>									
Produto/ Extrato	100% Puro			1:10			1:40		
	3 min	5 min	12 min	3 min	5 min	12min	3 min	5 min	12 min
A1	-	-	-	+	+	+	+	+	+
A2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A3	-	-	-	-	-	-	+	+	+
A4	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococccs aureus</i>									
Produto/ Extrato	100% Puro			1:10			1:40		
	3 min	5 min	12 min	3 min	5 min	12min	3 min	5 min	12 min
A1	-	-	-	+	+	+	+	+	+
A2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A3	-	-	-	+	+	+	+	+	+
A4	-	-	-	-	-	-	+	+	+

De acordo com Pinto et al. (2003), os produtos submetidos à vigilância sanitária como os medicamentos, fitoterápicos, saneantes e outros, devem respeitar limites microbianos, garantindo uma segurança para seu uso ou consumo. Existem produtos que este limite microbiano se constitui em ausência absoluta de forma viável (estéreis) ou em presença de grandezas definidas (não-estéreis). Neste caso, existem valores máximos de contaminantes aceitáveis, desde que não haja a presença de determinadas cepas microbianas. Assim, tem-se a necessidade de comprovar a ausência de microrganismos patogênicos e determinar o número de microrganismos viáveis. Esse controle visa assegurar a carga microbiana (qualitativa e quantitativa) presente no produto não comprometendo sua qualidade final e a segurança do usuário.

Corroborando, Sironi (2009), desenvolveu uma pesquisa na qual se realizou uma avaliação microbiológica de produtos saneantes destinados à limpeza, onde o Cloreto de alquil dimetil benzil amônio foi analisado. Esse produto se mostrou satisfatório frente aos outros sob análise. Não houve presença de coliformes totais e fecais e nem crescimento de

microrganismos potencialmente patogénicos. O crescimento bacteriano e o crescimento de fungos e leveduras também se mostrou não significativo.

CONCLUSÕES

O uso dos extratos hidroalcoólico e glicólico de *Symphytum officinale* comparado com o produto Cloreto de dialquil dimetil amônio 0,50%, cloreto de alquil dimetil dimetil benzil amônio 0,50% e cloreto de cetil trimetil amônio 0,35%. não apresentou efetiva atividade antimicrobiana, uma vez que, realizada algumas diluições, houve crescimento bacteriano significativo, enquanto o produto supracitado foi efetivo em todos os testes nas diferentes cepas.

Todavia nossos achados a respeito da atividade dos extratos são importantes, pois assim podemos dar continuidade ao trabalho verificando seu real papel antimicrobiano, constituindo novas fronteiras na área da microbiologia e da resistência destes microrganismos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARDISSON, L et al. **Preparação e caracterização de extratos glicólicos enriquecidos em taninos a partir das cascas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Barbatimão).** Minas Gerais, Rev. Brasileira de Farmacognosia. Belo Horizonte, v. 12, n.1,p.27-34, 2002.

COUTINHO, I.H.I.L.S et al. **Efeitos do extrato hidroalcoólico de Aroeira (*Shinus terebinthifolius raddi*) na cicatrização de anastomoses colônicas, estudo experimental em ratos.** Acta Cir Bras. [periódico na internet] 2006; v.21. Disponível em: <<http://www.scielo.br/acb>>. Acesso em 8 de agosto de 2012.

CRUZ, P.B; PEREIRA,C.A.M. **Avaliação da presença de antimicrobianos naturais em condimentos industrializados.** São Paulo, Rev. Simbio-Logias, São Carlos, v.3, n.5, p. 125-131, 2010.

MACHADO, K.E. **Atividade antimicrobiana dos extratos, frações e substâncias isoladas da *Eugenia umbeliflora* BERG.** Tese (Mestre em Ciências Farmacêuticas) – Universidade do Vale do Itajaí. 2005.

OLIVEIRA, H.C.S.; VIEIRA, D.; FERREIRA,C.M.R. **Avaliação do potencial cicatricial do gel de confrei (*Symphytum officinale* L.) associado à técnica do ultrassom terapêutico em ratos com feridas cutâneas.** Minas Gerais, Rev. Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Extensão do UNIPAM, Patos de Minas, v.6, p. 31-44. 2009.

PELCZAR Jr, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: conceitos e aplicações.** 2 ed. São Paulo: MAKRON Books do Brasil LTDA,1996.

PEREIRA, C.A; VILELA, P.G.F; OLIVEIRA, L.D; JORGE, A.O.C. **Ação antimicrobiana *in vitro* de extratos glicólicos de *Psidium guajava L.*, *Syzygium cumini L.*, e *Pimpinella anisum L.*** In. XII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VIII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação. São Paulo. Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos. P. 1-4, 2008.

PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos.** 2.ed. São Paulo: Atheneu, 2003.325p.

REIS, L. M.;RABELLO,B. R.; ROSS, C.; SANTOS, L.M.R. **Avaliação da atividade antimicrobiana de antissépticos e desinfetantes utilizados em um serviço público de saúde.** Distrito Federal, Revista Brasileira de Enfermagem. Brasília, v.64, n.5, p. 870-875, 2011.

SILVA, N. et al. **Ocorrência de *Escherichia coli* em vegetais e resistência aos agentes de desinfecção de verduras.** São Paulo, Rev. Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas, v.23, n.2, p. 167-173, 2003.

SIRONI, P.B. **Avaliação microbiológica de produtos saneantes destinados à limpeza.** 2009. 43 f. Monografia apresentada ao Instituto de Biociências da comissão de graduação de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para obtenção do grau de bacharel em Ciências Biológicas.

SOUZA, J. B; DANIEL, L. A. **Comparação entre hipoclorito de sódio e ácido peracético na inativação de *E. coli*, colifagos e *C. perfringens* em água com**

elevada concentração de matéria orgânica. Rio de Janeiro, Rev. Eng. Sanit. Ambient, Rio de Janeiro, v.10,n.2, p. 111-117, 2005.