Anais do I Seminário Internacional de Ciências do Ambiente e Sustentabilidade na Amazônia

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DO BARBATIMÃO E DA MANGABEIRA CONTRA BACTÉRIAS RELACIONADAS ÀS INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO

Gabriela Ortega Coelho Thomazi; Aparecido Osdimir Bertolin; Mac David da Silva Pinto.
gabiortegacoelho@hotmail.com

Realização
UFAM

Apoio
CAPES
CNPq Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
FAPEAM
SDS Secretaria do Estado do meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável
MANAUS SEMMAS Secretaria Municipal do Meio Ambiente e Sustentabilidade

INTRODUÇÃO

As infecções do trato urinário estão entre as doenças infecciosas mais comuns na prática clínica, sendo o tipo mais comum de infecção hospitalar. Além disso, o aumento da resistência dos uropatógenos tanto na comunidade quanto no ambiente hospitalar expõe a necessidade da busca por novas medidas defensivas, como a exploração de novos agentes antimicrobianos (BAIL *et al*., 2006).

Espécies vegetais como o barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) e a mangabeira (*Hancornia speciosa*, Gomez) têm vários empregos na medicina tradicional no tratamento de hemorragias, inflamações, infecções (LORENZI, 2000), entre elas infecções urinárias. Diversos trabalhos associados à etnobotânica têm indicado o uso destas espécies como "curadoras" de enfermidades, inclusive infecções relacionadas ao trato urinário (COELHO *et al.*, 2005; MACEDO; FERREIRA, 2004; ORLANDO, 2005; RODRIGUES, 2007).

Segundo Simões (2007), pesquisas vinculadas às atividades antimicrobianas de espécies vegetais, utilizadas na medicina tradicional, proporcionam excelentes oportunidades para o desenvolvimento de novos produtos medicinais, além de constituir uma alternativa para os problemas relacionados à resistência microbiana.

O Estado do Tocantins encontra-se situada em uma zona de transição geográfica entre o Cerrado e a floresta Amazônica, apresentando uma alta diversidade vegetal que favorece o desenvolvimento de pesquisas ligadas às propriedades antibacterianas de plantas, comumente utilizadas pelas comunidades tradicionais. Este fator contribuir para o incremento de alternativas terapêuticas, favorecendo a conservação dos recursos naturais, além da valorização e uso sustentável da diversidade brasileira.

OBJETIVOS

O presente estudo teve por objetivo avaliar a atividade antibacteriana dos extratos da casca e das folhas de S*tryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) (barbatimão) e a *Hancornia speciosa* (mangabeira) contra bactérias isoladas de amostras positivas de uroculturas, buscando comprovar a eficiência dos extratos no combate a infecção urinária e corroborar o uso destas plantas pela medicina tradicional.

METODOLOGIA

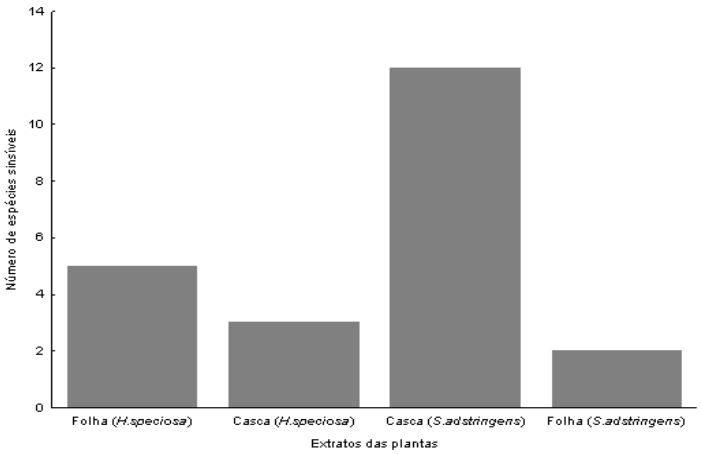
As espécies foram coletadas no campus da Universidade Federal do Tocantins em Porto Nacional. Os extratos (casca e folha) foram obtidos pela maceração em álcool etílico a 96%, e após extração prolongada, a solução resultante foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo e, posteriormente, liofilizada, seguindo o proposto por Colares (2007). Para registro, um exemplar de cada espécie foi herborizado e levado ao Laboratório de Taxonomia Vegetal da Universidade Federal do Tocantins, o material foi incluído na coleção de referência do Herbário da Universidade Federal do Tocantins (HTO), sob registro nº 10.041 para *S. adstringens* e nº 10.042 para *H. speciosa*.

Os extratos de cada espécie foram diluídos em solução de dimetilsulfóxido (DMSO) em três concentrações (100, 200 e 300mg/mL). A determinação da atividade antibacteriana foi verificada por meio da difusão em ágar pela técnica de poços, em triplicata para cada concentração, fundamentada na Norma M2-A8 do NCCLS, com modificações (NCCLS, 2003; ORLANDO, 2005). Os antibióticos Ampicilina e Ciprofloxacino foram utilizados como controle positivo para as bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus, S. epidermidis, S. saprophyticus* e *Staphylococcus sp*.) e Gram-negativas, (*Citrobacter sp., Enterobacter agglomerans, E. sp., Escherichia coli, Klebsiella ornithinolytica, K. oxytoca, K. ozaenae, Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis,* e o bacilo Gram-negativo não fermentador (BGN-NF)). Como controle negativo foi utilizado DMSO puro (SOUZA, 2007; STAMM, 2003). A sensibilidade microbiana foi medida a partir do tamanho do halo (mm) para cada extrato das plantas. Halos de sensibilidade inferiores a 10 mm foram desconsiderados. Os resultados foram expressos pela média e desvio padrão, com auxilio do software Statistica 5.0 (www.statsofware.com).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Dos extratos testados, a casca de *S. adstringens* e a folha de *H. speciosa* apresentaram o maior potencial antibacteriano. A casca de *S. adstringens* apresentou o maior número de espécies sensíveis (12 espécies), seguidos pela folha de *H. speciosa* (05 espécies), casca de *H. speciosa* (03 espécies) e folha de *S. adstringens* (02 espécies) (Figura 1).

Figura 01: Comparação entre o número de espécies bacterianas sensíveis aos extratos das folhas e cascas do barbatimão e mangabeira.



O extrato da casca de *S. adstringens* apresentou ação contra: *P. mirabilis*, *S. epidermidis*, *Enterobacter sp., S. saprophyticus*, *S. aureus*, *Staphylococcus sp., E. coli*, BGN-NF, *Citrobacter sp*., *E. agglomerans*, *P. aeruginosa*, *K. oxytoca*, já a folha demonstrou atividade apenas contra *E. agglomerans* e *P. aeruginosa* (Tabela 1).

Tabela 01: Diâmetro médio e desvio padrão (±DP) dos halos de inibição (mm) do extrato da casca e da folha de *S. adstringens* (Barbatimão) para as bactérias testadas.

ESPÉCIE	*Stryphnodendron adstringens*			
	CASCA		FOLHA	
	MÉDIA	DP(±)	MÉDIA	DP(±)
BGN-NF	**14,00**	**2,56**	8,00	4,26
Citrobacter sp.	**13,25**	**8,41**	1,75	4,09
Enterobacter aggomerans	**12,83**	**9,52**	**12,61**	**9,43**
Enterobacter sp.	**17,83**	**2,48**	0,00	0,00
Escherichia coli	**14,47**	**5,60**	0,75	3,12
Klebsiella ornithinolytica	0,00	0,00	0,00	0,00
Klebsiella oxytoca	**12,17**	**2,71**	1,67	4,08
Klebsiella ozaenae	1,50	3,67	0,00	0,00
Proteus mirabilis	**21,33**	**3,50**	6,67	1,63
Pseudomonas aeroginosa	**12,83**	**5,03**	**10,00**	**5,91**
Staphylococcus aureus	**17,50**	**2,48**	0,00	0,00
Staphylococcus epidermidis	**21,08**	**4,01**	5,75	6,11
Staphylococcus saprophyticus	**17,83**	**2,86**	0,00	0,00
Staphylococcus sp.	**17,35**	**4,28**	6,06	6,60

A atividade antibacteriana do extrato da casca de *H. speciosa* foi observada contra as bactérias *E. agglomerans*, *S. epidermidis*, *P. mirabilis*, o extrato da folha mostrou-se eficaz contra todas as espécies de *Staphylococcus* testadas e contra *P. mirabilis* (Tabela 2).

Tabela 02: Diâmetro médio e desvio padrão (±DP) dos halos de inibição (mm) do extrato da casca e da folha de *H.speciosa* (Mangabeira) para as bactérias testadas.

ESPÉCIE	*Hancornia speciosa*			
	CASCA		FOLHA	
BGN-NF	7,00	7,41	9,00	3,86
Citrobacter sp.	5,50	5,81	1,92	4,52
Enterobacter aggomerans	**14,78**	**11,06**	9,44	8,62
Enterobacter sp.	4,17	6,20	8,50	4,78
Escherichia coli	2,89	5,53	6,37	5,99
Klebsiella ornithinolytica	0,00	0,00	0,00	0,00
Klebsiella oxytoca	1,67	4,08	1,67	4,08
Klebsiella ozaenae	0,00	0,00	0,00	0,00
Proteus mirabilis	**11,50**	**0,55**	**11,67**	**2,34**
Pseudomonas aeroginosa	6,50	5,96	7,71	5,49
Staphylococcus aureus	0,00	0,00	**13,33**	**1,57**
Staphylococcus epidermidis	**13,00**	**1,86**	**15,33**	**5,66**
Staphylococcus saprophyticus	0,00	0,00	**15,33**	**3,20**
Staphylococcus sp.	9,79	6,30	**12,88**	**5,95**

As bactérias Gram-positivas mostraram-se mais sensíveis a maior parte dos extratos utilizados, corroborando com o proposto por Maia (2008), utilizando outros extratos vegetais. Este autor propõe que o perfil de seletividade em relação às bactérias Gram-positivas é comumente encontrado neste tipo de experimento. A resistência intrínseca das bactérias Gram-negativas aos agentes antimicrobianos está relacionada com a parede celular, que é mais complexa estruturalmente e quimicamente, além da

presença da membrana externa, do espaço periplasmático e do mecanismo de bomba de efluxo, que contribuem para esta particularidade (MAIA, 2008).

Para oito espécies bacterianas testadas (*P. mirabilis, Enterobacter sp., Staphylococcus sp., Citrobacter sp., S. saprophyticus, E. agglomerans, K. oxytoca* e BGN-NF) não há registro literatura sobre atividade antibacteriana da casca de *S. adstringens*. No entanto, para as espécies *S. aureus*, *E. coli, S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis, Neisseria gonorrhoeae, Shigella flexneri,* outras espécies de *Klebsiella*, assim como *Streptococcus mitis, Lactobacillus casei*, e espécies de *Candida,* foi comprovada ação contra estes microrganismos (ALVES *et al*., 2000; ORLANDO, 2005; ISHIDA *et al*., 2006; SOARES *et al.*, 2008; SOUZA, 2007).

A maior atividade antibacteriana de casca de *S. adstringens* pode estar associada aos altos teores de taninos que são encontrados nesta parte da planta, e que exercem atividade biológica, tais como: anti-séptica, antimicrobiana, anti-hemorrágica, antidiarréica, cicatrizante e antiinflamatória (ALVES *et al*., 2000).

A utilização de *H. speciosa* como planta medicinal é comumente conhecida, no entanto poucos trabalhos estão relacionados à atividade microbiana. Santos *et al*. (2007) testaram atividade antimicrobiana do látex e Santos *et al*. (2006) testaram a ação antimicrobiana dos óleos essenciais das folhas. Ambos não encontraram atividade frente aos microrganismos testados.

Nas folhas de *H. speciosa* são encontrados flavonóides da classe rutina, que possuem atividade antiinflamatória, antiviral e antibacteriana (ZUANAZZI; MONTANHA, 2007).

A casca de *S. adstringens* e a folha de *H. speciosa* apresentaram atividade antibacteriana contra todas as espécies de *Staphylococcus* testadas. Estas espécies estão presentes na pele e membranas mucosas dos seres humanos. São patógenos importantes e causam amplo espectro de doenças, desde infecção urinária até doenças da pele, dos tecidos moles, ossos e infecções oportunistas (MURRAY *et al*., 2006).

A família *Enterobacteriaceae* constitui o maior e mais heterogêneo conjunto de Gram-negativos clinicamente importantes. Fazem parte da microbiota intestinal de humanos e estão relacionadas com diversas doenças humanas, como mais de 70% das infecções urinárias, de 30% a 35% das sepses, e muitas infecções intestinais e oportunistas (MURRAY *et al*., 2006). O extrato da casca de *S. adstringens* apresentou atividade contra a maior parte das bactérias deste grupo (exceto *K. ozaenae* e *K. ornithinolytica*) enquanto que o extrato da folha foi eficaz apenas contra *E. agglomerans.* Os extratos da casca e folha de *H. speciosa* foram ativos contra *P. mirabilis*, e além deste, a casca também mostrou atividade contra *E. agglomerans.*

Pseudomonas e bacilos não-fermentadores compõem um grupo complexo de patógenos oportunistas. *P. aeruginosa* está relacionada às infecções complexas do trato urinário, principalmente em pacientes com cateter. Além disto, está relacionada com muitos casos de infecção hospitalar e diversas

doenças, como infecções pulmonares, da pele, ouvido, oculares, sepses e oportunistas (MURRAY *et al*., 2006). Neste estudo, os extratos da casca e das folhas de *S. adstringens* foram os únicos que apresentaram atividade antibacteriana contra *P. aeruginosa*, indicando que esta espécie pode ser utilizada para combater tais infecções. Além desta, a casca de *S. adstringens* também foi ativa contra BGN-NF.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os extratos da casca de *S. adstringens* e das folhas de *H. speciosa* possuem grande potencial antimicrobiano, destacando-se como espécies vegetais promissoras para a elaboração de produtos terapêuticos.

O emprego destas plantas na medicina popular sugere que estas são eficientes no combate a infecção urinária. Desta forma, de acordo com os resultados, propõe-se que estes extratos podem ser utilizados para combater este tipo de infecções, fornecendo novos agentes antimicrobianos.

Observando que os resultados apontam para a ação de um extrato, o qual é composto por uma mistura de diversas substâncias. Para o conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, são imprescindíveis pesquisas que isolem as substâncias responsáveis por esta atividade e a execução de testes toxicológicos para viabilizar seu emprego contra doenças infecciosas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, T. M. A. *et al*. Biological screening of brasilian medicinal plants. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 95, n. 3, p. 367-373, maio/jun. 2000. Disponível em < http://www.scielo.br > Acesso em: 01 abr. 2008.

BAIL, L. *et al*.. Infecção do trato urinário: comparação entre o perfil de susceptibilidade e a terapia empírica com antimicrobianos. **RBAC**, v. 38, n.1, p. 51-56, 2006. Disponível em < http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/rbac/rbac_38_01/rbac3801_13.pdf > Acesso em: 06 abr. 2009.

COELHO, F.B.R., *et al*. Levantamento etnofarmacológico realizado na comunidade Mumbuca localizada no Jalapão – TO. **Revista Eletrônica de Farmácia**, suplemento, v. 2, n. 2, p. 52-55, 2005. Disponível em < http://www.farmacia.ufg.br/revista> Acesso em: 24 set. 2008.

COLARES, A. V. **Validação farmacológica da atividade antiofídica da espécie do Cerrado *Galactia glaucescens (Kunth) (Leguminosae*).** 2007. 96p. Dissertação (Mestrado em Ciências do Ambiente) - Universidade Federal do Tocantins, Palmas-TO.

ISHIDA, K. *et al*. Influence of tannins from *Stryphnodendron adstringens* on growth and virulence factors of *Candida albicans.* **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 58, p.942–949, 2006. Disponível em < http://jac.oxfordjournals.org/cgi/reprint/58/5/942.pdf > Acesso em: 01 abr. 2009.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 3 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, v. 1, 2000.

MACEDO, M.; FERREIRA, A. R. Plantas hipoglicemiantes utilizadas por comunidades tradicionais na Bacia do Alto Paraguai e Vale do Guaporé, Mato Grosso - Brasil. **Rev. Bras. Farmacogn**., v. 14, s.1, p.45-47, 2004. Disponível em < http://www.scielo.br> Acesso em: 25 ago. 2008.

MAIA, C. N. **Análise fitoquímica e atividade antibacteriana *"in vitro"* de extratos de plantas do Cerrado**. 2008. 68p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros-MG.

MURRAY, P. R. *et al*. **Microbiologia Médica**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. **Padronização dos testes de sensibilidade a antimicrobianos por disco-difusão**: Norma Aprovada – 8. ed. Norma M2-A8 do NCCLS. Wayne, Pennsylvania: NCCLS, 2003. Disponível em < http://www.anvisa.gov.br > Acesso em: 01 mar. 2009.

ORLANDO, S. C. **Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico bruto da casca do *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Barbatimão).** 2005. 88p. Dissertação (Mestrado em Promoção de Saúde) - Universidade de Franca, Franca-SP.

RODRIGUES, C. M.. **Caracterização quali e quantitativa de metabólitos secundários em extratos vegetais**. 2007. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara-SP, 2007.

SANTOS, E. A. *et al*. Constituintes voláteis das folhas de *Hancornia speciosa (Apocynaceae*). 29ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, **Anais**..., 2006. Disponível em < http://sec.sbq.org.br/cd29ra/resumos/T0056-1.pdf> Acesso em: 25 ago. 2008.

SANTOS, P.O. *et al*. Investigação da atividade antimicrobiana do látex da mangabeira (*Hancornia speciosa* GOMEZ**). Rev. Bras. Pl. Med**., Botucatu, v.9, n.2, p.108-111, 2007. Disponível em < http://www.ibb.unesp.br/servicos/publicacoes/rbpm/pdf_v9_n2_2007/artigo14_v9n2_108-111.pdf > Acesso em: 02 jul. 2008.

SIMÕES, C. M. O. (Org.). **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007.

SOARES, S. P. *et al*.Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico bruto de *Stryphnodendron adstringens* sobre microorganismos da cárie dental. **Revista Odonto Ciência**, v.23, n. 2, p.141-144, 2008. Disponível em <http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/fo/article/viewFile/1140/3031> Acesso em: 24 set. 2008.

SOUZA, T. M. de. **Estudo farmacognóstico e avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica de preparações cosméticas contendo o extrato de folhas de *Myrciaria caulifolora* O. Berg. (*MYRTACEAE*) e de casca de *Stryphnondendron adstringens* (Mart.) Coville (*LEGUMINOSAE-MIMOSOIDAE*).** 2007. 181p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual de Paulista "Júlio Mesquita", Araraquara-SP.

STAMM, A. M. N. F. **Infecção do trato urinário**: aspectos no diagnóstico e tratamento. Florianópolis: Editora da UFSC, 2003.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O. (Org.). **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007.