



Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de frutos verdes e maduros de *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre isolados de *Acinetobacter baumannii* multirresistentes

Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de frutos verdes e maduros de *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre isolados de *Acinetobacter baumannii* multirresistentes

Crisllany Tenório Costa Santos⁽¹⁾; Marcia Mayra Ramos de Azevedo⁽²⁾;
Chryslane Barbosa da Silva⁽³⁾; Thiago José Matos Rocha⁽⁴⁾;
Aldenir Feitosa dos Santos⁽⁵⁾ Luana Luzia Santos Pires⁽⁶⁾

⁽¹⁾Estudante, Centro Universitário Cesmac, Maceió-AL, Brasil. crisllanytenorio@hotmail.com

⁽²⁾Docente, Centro Universitário Cesmac. Maceió-AL, Brasil. mayra_azevedo13@hotmail.com

⁽³⁾Doutoranda do Programa de Pós-Graduação da Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO. chryslanebs@hotmail.com

⁽⁴⁾Docente e pesquisador da Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas e membro permanente do Programa de Pós-graduação em Análise de Sistemas Ambientais pelo Centro Universitário Cesmac. Maceió-AL, Brasil. thy_rocha@hotmail.com

⁽⁵⁾Docente e pesquisadora da Universidade Estadual de Alagoas e membro do Programa de Pós-graduação em Análise de Sistemas Ambientais pelo Centro Universitário Cesmac. Maceió-AL, Brasil. aldenirfeitosa@gmail.com;

⁽⁶⁾Docente e pesquisadora, Centro Universitário Cesmac. Maceió-AL, Brasil. llspires@yahoo.com.br

Todo o conteúdo expresso neste artigo é de inteira responsabilidade dos seus autores.

Recebido em: 15 de agosto de 2018; Aceito em: 24 de novembro de 2018; publicado em 25 de 01 de 2019. Copyright © Autor, 2019.

RESUMO: O aumento da resistência entre isolados de *Acinetobacter* tem sido documentado em várias partes do mundo, sendo responsável por casos de surto de infecção hospitalar, assim, a busca por novos compostos bioativos torna-se relevante. A partir disso, o trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais dos frutos verdes e maduros de *S. terebinthifolius* sobre isolados de *A. baumannii*. Para realização deste ensaio foi utilizado o método de microdiluição em caldo para o teste de triagem e concentração inibitória mínima (CIM). Dos óleos essenciais puros (0,8 mL) foram preparadas emulsões a 16% com água destilada (4,2 mL) e Tween 80 (50 uL), os quais permaneceram sob agitação constante durante 5 minutos em vortex. Um volume (100uL) dos óleos a 16% foram aplicados em triplicata nos poços com 100uL de caldo Müeller-Hinton, finalizando com 10uL da suspensão bacteriana (5×10^6 UFC/mL). Para determinação da CIM, diluições seriadas foram realizadas com os óleos de 8% até 0,03125%. O óleo essencial do fruto verde não apresentou atividade antibacteriana, enquanto o óleo essencial do fruto maduro foi contra até 0,03125%, o que se conclui que o óleo essencial de frutos maduros de aroeira representa uma nova fonte terapêutica contra isolados de *A. baumannii* multirresistentes envolvidas em infecção hospitalar.

PALAVRAS-CHAVE: *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Acinetobacter baumannii*, Atividade Antimicrobiana.

ABSTRACT: The increased resistance among isolates of *Acinetobacter* have been documented in various parts of the world, being responsible for cases of hospital infection outbreak, so the search for new bioactive compounds becomes relevant. From this, the work aimed to evaluate the antimicrobial activity of the essential oils of the unripe fruit of *S. terebinthifolius* and mature on isolates of *A. baumannii*. This essay was used the method of microdiluição in broth for the screening test and minimum inhibitory concentration (MIC). Pure essential oils (0.8 mL) 16% the emulsions were prepared with distilled water (4.2 mL) and Tween 80 (50 uL), which remained under constant stirring for 5 minutes in vortex. The volume (100uL) of oils to 16% were applied in triplicate wells with 100uL of Müeller-Hinton broth, ending with 10uL of bacterial suspension (5×10^6 cfu/mL). For determination of the CIM, serial dilutions were made with 8% oils up 0.03125%. The essential oil of the fruit Green showed no antibacterial activity, while the essential oil of the low-hanging fruit was against up 0.03125%, which concludes that the essential oil of ripe fruits of mastic represents a new therapy against isolates of *A. baumannii* nosocomial infection involved in multidrug-resistant.

KEYWORDS: *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Acinetobacter baumannii*, Antimicrobial activity.

INTRODUÇÃO

Acinetobacter baumannii multirresistente é reconhecido entre os bacilos gram-negativos resistentes aos antimicrobianos o mais difícil de controlar e tratar. O aumento da resistência entre isolados de *Acinetobacter* tem sido documentado em várias partes do mundo, sendo responsável por casos de surto de infecção hospitalar, incluindo bacteremia, pneumonia, meningite, infecções urinária e de ferida. Como a resistência antimicrobiana limita muito as opções terapêuticas para os pacientes que estão infectados com este micro-organismo, especialmente se os isolados são resistentes aos carbapenêmicos, o desenvolvimento ou a descoberta de novas substâncias são essenciais, para a busca de novas alternativas terapêuticas a partir de produtos naturais (MARAGAKIS; PERL, 2008).

Os óleos essenciais já são utilizados há muitos anos atrás pela medicina, onde estão associados à cura de doenças e também na busca do bem estar. Estes óleos não são substâncias puras, pois resultam da mistura de diversos compostos orgânicos (NICOLINI, PUGET, MAZZA; 2009).

A espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi também conhecida como aroeira-vermelha pertencente à família *Anacardiaceae* e é uma planta nativa da América tropical. No Brasil é típica da caatinga do nordeste, encontrada desde o Ceará até o Rio Grande do Sul. Essa árvore pode apresentar de 4 a 10 metros de altura. Todas as partes dessa planta são utilizadas para fins comerciais, devido suas propriedades medicinais, fitoquímicas e alimentícias pelo consumo do seu fruto (NICOLINI, PUGET, MAZZA; 2009).

A aroeira possui diversas ações como cicatrizante, anti-inflamatória, adstringente, antimicrobiana e regeneradora de tecidos. Além disso, pode também ser extraído um óleo da casca e dos frutos que poderá possuir outras propriedades medicinais (NICOLINI, PUGET, MAZZA, 2009). Estudos fitoquímicos comprovam a presença álcoois, ácidos, monoterpênicos, cetonas, triterpênicos e sesquiterpênicos (COLE, 2008).

Assim, o trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana dos óleos essenciais dos frutos verdes e maduros de *Schinus terebinthifolius* na inibição do crescimento de isolados multirresistentes de *Acinetobacter baumannii*.

PROCEDIMENTO METODOLÓGICO

O presente artigo trata-se de um estudo analítico experimental que foi realizado no setor de microbiologia do laboratório da Farmácia Escola no Centro Universitário Cesmac. Para realização da pesquisa foram utilizados os frutos verdes e maduros da espécie vegetal *Schinus terebinthifolius* Raddi, coletados no município de Maceió-Alagoas.

Extração dos óleos essenciais e ajuste da concentração para os bioensaios

Os frutos verdes e maduros da aroeira-vermelha foram cortados e misturados separadamente em balão com água e submetidos à hidrodestilação em aparelho de Clevenger para obtenção do óleo essencial. Até a realização dos testes antibacterianos, os óleos foram armazenados a - 20°C e a água residual removida.

Para realização dos ensaios antibacterianos, os óleos essenciais puros dos frutos verdes e maduros da aroeira-vermelha foram inicialmente diluídos em água destilada estéril, utilizando um método que compreendeu as seguintes etapas em tubos de vidro estéril: 0,8 mL do óleo essencial puro, 0,05 mL de Tween 80 e 4,2 mL de água destilada estéril; o conjunto foi agitado durante 5 minutos em aparelho agitador de soluções tipo vortex e as concentrações dos óleos foram ajustadas para 16% (CAVALCANTE et al., 2011).

Bioensaios antibacterianos

A atividade antibacteriana foi analisada pelo método de microdiluição em caldo segundo métodos descritos pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (CAVALCANTE et al., 2011).

Os ensaios antibacterianos foram realizados com isolados clínicos de *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos do tipo MBL e OXA, cedidos pela bacterioteca do laboratório do Centro de Patologia e Medicina Laboratorial da UNCISAL e cepa-padrão ATCC 17978. Uma suspensão de cada bactéria foi preparada em solução fisiológica a partir de 0,5 MacFarland (1,5 x 10⁸ UFC/mL), posteriormente diluída 1:20.

Em seguida, foram transferidos 10 µL da suspensão bacteriana para os poços da microplaca em triplicata, previamente inoculada com 100 µL de caldo Müller-Hinton duplamente concentrado e 100 µL do óleo essencial da aroeira a 16%, a qual foi posteriormente incubada a 37°C por 16 a 20 horas. Os resultados foram analisados visualmente com auxílio de reagente redox MTT (0,5 mg/mL). Amicacina (5 mg/L) foi utilizada como controle positivo e o agente emulsificante (Tween 80 em água destilada estéril) como controle negativo, além dos controles de crescimento e de esterilidade. Após detecção da atividade, foram realizadas diluições seriadas do óleo de 8% a 0,03125% na placa de microdiluição para determinar a CIM, que corresponde à última diluição na qual não foi verificada a presença de crescimento bacteriano no meio de cultura após o período de incubação a 37°C por 16 a 20 horas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo essencial do fruto verde da aroeira não apresentou atividade contra os isolados multirresistentes de *A. baumannii*, em contraste com o óleo essencial do fruto maduro que foi capaz de inibir em diferentes concentrações o crescimento de *A. baumannii* com vários mecanismos de resistência aos carbapenêmicos (Tabela 1).

Os carbapenêmicos são antibióticos caracterizados pelo seu amplo espectro de ação contra bactérias gram-positivas e gram-negativas e são estáveis a degradação pela maioria das β-lactamases. Como todos os agentes β-lactâmicos, os carbapenêmicos atuam inibindo a síntese da parede celular através da ligação e inativação das proteínas ligadoras de penicilinas (RIBEIRO, 2013).

Atualmente, os isolados multirresistentes de *Acinetobacter* representam grave problema de saúde pública, porque são extremamente difíceis de tratar, gerando surtos de infecção dentro do ambiente hospitalar com altos índices de mortalidade (MARAGAKIS; PERL, 2008).

Tabela 1. Concentração inibitória mínima dos óleos essenciais dos frutos verdes e maduros de *Schinus terebinthifolius*.

Bactérias Analisadas	Óleo Essencial Frutos Verdes (%)	Óleo Essencial Frutos Maduros (%)
<i>A. baumannii</i> 19 (OXA)	-	0,03125
<i>A. baumannii</i> 54 (OXA)	-	0,5
<i>A. baumannii</i> 162 (OXA)	-	0,125
<i>A. baumannii</i> 178 (MBL)	-	1
<i>A. baumannii</i> 203 (MBL)	-	1
<i>A. baumannii</i> 211 (MBL)	-	1
<i>A. baumannii</i> 380 (MBL)	-	0,5
<i>A. baumannii</i> ATCC 17978	-	0,125

MBL – Metalo-beta-lactamase; OXA – Oxacilinas.

Fonte: Autor

Um estudo realizado por Clemente (2006) observou uma predominância sesquiterpenos no óleo essencial extraído dos frutos verdes de *S. terebinthifolius*, enquanto que no óleo essência extraído dos frutos maduros, uma predominância de moterpenos. Observou-se também que existe uma considerável diferença nas concentrações dos compostos presentes, assim, pode explicar a possível ausência de atividade biológica dos frutos verdes observados nesse estudo.

A aroeira possui diversas ações como cicatrizante, anti-inflamatória, adstringente, antimicrobiano e regenerador de tecidos, cicatrizante, anti-inflamatória, adstringente, antimicrobiano e regenerador de tecidos (NICOLINI, PUGET, MAZZA, 2009). Muitas de suas propriedades ou de seus efeitos curativos podem ser atribuídos aos diferentes polifenóis que estão distribuídos de modo desigual nos diversos órgãos da planta, como cascas, folhas, flores, frutos e sementes. Estes polifenóis são substâncias de grande importância para a fisiologia vegetal, contribuindo para o mecanismo de defesa (SANTOS et al., 2013).

Diversos estudos comprovam ação antimicrobiana do fruto da aroeira-vermelha aos diversos compostos encontrados em seu óleo como álcoois, ácidos, monoterpenos, cetonas, triterpenos e sesquiterpenos e a composição química desses óleos pode variar dependendo diretamente do local onde a planta é cultivada, dentre vários fatores pelo clima, solo, tratos culturais e exposição à luz, dependendo também das suas

características genéticas. Entretanto, como mostra o presente trabalho a composição química desses óleos pode variar também com o grau de maturação do fruto (COLE, 2008).

CONCLUSÃO

O óleo essencial do fruto maduro de aroeira-vermelha demonstrou ser uma nova fonte de produto natural contra isolados multirresistentes de *Acinetobacter baumannii*, o que não foi evidenciado no óleo essencial dos frutos verdes.

REFERÊNCIAS

1. CAVALCANTI, Y. W.; PEREZ, A. L, XAVIER, G. G. R.; ALMEIDA, L. F. D.; Efeito inibitório de óleos essenciais sobre microrganismos do canal radicular. Rev Odontol UNESP, São Paulo, v. 40, n. 5. p. 208-214, 2011.
1. COLE, E. R. Estudo fitoquímico do óleo essencial dos frutos de aroeira (*Schinus terebinthifolius* RADDI) e sua eficácia no combate com a dengue. 2008. 66 f. Dissertação (Mestrado em Química, na área de concentração em química de produtos naturais). Programa de Pós Graduação em Química do Centro de Ciências Exatas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2008.
2. MARAGAKIS, L. L.; PERL, T. M. *Acinetobacter baumannii*: Epidemiology, Antimicrobial Resistance, and Treatment Options, Baltimore, v. 15, n. 3, p. 2-6, 2007.
3. RIBEIRO, V. B. Detecção de resistência aos carbapenêmicos e avaliação da produção de *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC) em isolados clínicos da família Enterobacteriaceae. 2013. 132 f. Tese (Doutor em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2013.
4. SANTOS, O. J.; MALAFAIA, O.; FILHO, J. M. R; CZECZKO, N. G.; SANTOS, R. H. P.; SANTOS, R. A. P. Efeito de *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira) e *Carapa guianensis* Aublet (andiroba) na cicatrização de gastrorrafias, São Luiz. v. 26, n. 2. p. 84-91, 2013.

5. CLEMENTE, A. D. Composição química e atividade biológica do óleo essencial da pimenta-rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi). 2006. 63 f. Tese (Doutor em Agroquímica) – Programa de Pós Graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.
6. NICOLINI, J. V.; PUGET, F. P.; MAZZA, M. G. G. Avaliação da eficiência de extração de óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira vermelha) pelos métodos de hidrodestilação e arraste a vapor. Disponível em: <<http://www.cobeqic2009.feq.ufu.br/uploads/media/99317061.pdf>>. Acesso em: 22 nov. 2014.