

Centro Paula Souza
ETEC Júlio de Mesquita
Técnico em Química

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA *Alternanthera brasiliana*

Ágata Caetano Molino*

Claudia Ferreira**

Ellem Jhoyce de Sena Costa***

Ian Ferrete Azevedo****

Resumo: O problema da resistência de microrganismos aos antibióticos está piorando e as plantas têm sido um recurso disponível para a pesquisa de novos métodos de inibição. A espécie *Alternanthera brasiliana* é muito utilizada na medicina popular por conter ação antimicrobiana, cicatrizante anti-inflamatória e antitumoral, contribuindo então no aceleração da cicatrização de úlceras por isso foi escolhida como objeto de estudo para avaliação da atividade antimicrobiana, pelo método antibiograma. Foram coletadas três amostras de locais distintos, maceradas e discos de difusão foram submersos nos extratos naturais. Cepas bacterianas foram semeadas em Ágar Nutriente e os discos de difusão foram imergidos e posicionados nas placas de Petri. Após 24 horas, alguns dos extratos apresentaram halo de inibição de crescimento. A diferença inibitória observada entre os extratos sinaliza que fatores ambientais podem interferir em sua ação bactericida, sendo necessário um estudo mais aprofundado para compreender melhor essa interferência, bem como potencializar esta ação.

Palavras-chave: Extrato Natural. *Alternanthera brasiliana*. Atividade antimicrobiana.

1 INTRODUÇÃO

As plantas têm sido um recurso disponível para a sociedade desde os tempos antigos. O homem, durante milênios, a fim de aprofundou empiricamente seus conhecimentos para melhorar suas condições nutricionais e curar suas doenças, provando uma estreita relação entre o uso das plantas e sua evolução no conhecimento medicinal.[1] Os medicamentos disponíveis no mercado têm sua origem em protótipos químicos, na maioria dos casos, de origem vegetal.[2]

Sementes, caules, cascas, raízes, folhas e frutos fazem parte do meio de cura e do bem-estar dos seres vivos em cada canto do mundo. Mulheres de tribos primitivas extraíam os ingredientes ativos das plantas para curar doenças. Entre o início do século XVIII e XIX, Lavoisier (fundador da química moderna) realizou

*Aluna do curso Técnico em Química, na ETEC Júlio de Mesquita - ágata.molino@etec.sp.gov.br

**Aluna do curso Técnico em Química, na ETEC Júlio de Mesquita - claudia.ferreira36@etec.sp.gov.br

***Aluna do curso Técnico em Química, na ETEC Júlio de Mesquita - ellem.costa@etec.sp.gov.br

****Aluno do curso Técnico em Química, na ETEC Júlio de Mesquita - ian.azevedo@etec.sp.gov.br

estudos na tentativa de isolar e determinar a estrutura dos compostos ativos em vegetais. Entre 1901 e 1980, o uso de plantas na medicina se intensificou e ganhou muito espaço durante a Segunda Guerra Mundial para o tratamento e cicatrização de feridas e outras doenças.[3]

Com o desenvolvimento da botânica, a comprovação da autenticidade positiva do uso das plantas, pode ser explicado cientificamente. Através de estudos conseguimos comprovar a eficiência da medicina popular, que foi bem percebida com o surgimento da ciência moderna [4]. Com base nos estudos adquiridos no decorrer dos anos foi possível concluir, que os efeitos medicinais presentes nas plantas se deviam aos seus constituintes. Com tal descoberta, pesquisadores realizaram testes em laboratórios para chegar no processo de separação e sintetização desses componentes químicos, assim surgindo os remédios alopáticos, fazendo com que as plantas fossem cada vez menos utilizadas diretamente pela população [5].

Este trabalho visa contribuir com uma alternativa natural para controle de microrganismos, por meio de testes práticos, foi utilizado a espécie de planta *Alternanthera brasiliana*, facilmente encontrada no Brasil.

1.1 Sobre a *Alternanthera brasiliana*

Originária do Brasil, principalmente das regiões litorânea e amazônica, esta espécie é amplamente cultivada como planta ornamental [6]. *A. Alternanthera brasiliana* (nome científico), popularmente conhecida como Terramicina, Penicilina, Anador, Perpétua do mato, Doril, entre outros. É uma planta da família das *Amaranthaceae*. Delaporte et al. [7] descreve a planta como uma espécie herbácea perene, ereta ou rasteira, muito ramificada. Complementa o Guia Terapêutico:

É uma planta mesófito, de reprodução assexuada (caules e estacas). Pode chegar a 80 cm de altura, com caule anguloso e estriado, pubescente. Suas folhas são simples, oblongas com ápice acumulado e pecíolo curto. Possui flores, estames alternos com pseudo-estaminódios, dispostas em inflorescências axilares, de coloração esbranquiçada. Suas folhas e caule podem ser verdes, se crescerem protegidas de insolação, ou adquirir coloração avermelhada se estiver crescendo em ambiente ensolarado.[4]

De acordo com Patrícia Rocha e Rogério Marchete [8], essa espécie possui ação antimicrobiana, cicatrizante anti-inflamatória e antitumoral, contribuindo então no aceleração da cicatrização de úlceras. Sendo que, para este trabalho foi realizado um teste apenas para comprovar a sua ação antimicrobiana.

1.2 Crescimento microbiano

Quando falamos sobre crescimento microbiano, nos referimos ao número de células, não ao seu tamanho. Os microrganismos crescem aumentando em número e se acumulando em colônias (perceptíveis a olho nu) [9].

Essas pequenas populações podem reproduzir-se exponencialmente em um período muito curto de tempo. Um dos fatores que contribuem para esse crescimento é a temperatura. A maioria destes seres desenvolvem-se em condições adequadas para humanos (Mesófilas). No entanto, a capacidade de certas bactérias se proliferarem em climas extremos (Psicrófilos - em temperaturas baixas e Termófilas - em temperaturas altas), certamente impediria a sobrevivência de quase todas as bactérias. Outro fator que contribui para esse crescimento é a química, o Carbono é o esqueleto estrutural da matéria viva, é tão importante para todos os compostos orgânicos que metade do peso seco de uma célula bacteriana consiste em carbono. Nitrogênio, enxofre e fósforo também são usados pelas bactérias para sintetizar material celular. Exemplo: para produzir proteínas, é necessário grandes quantidades de nitrogênio e enxofre. Para a produção de DNA, RNA e ATP (molécula responsável pelo armazenamento e transferência de energia dentro da célula) também é utilizado nitrogênio e algum fósforo [9]. Complementa o Prof.º José Nascimento:

Os microrganismos necessitam de uma variedade de substâncias nutritivas capazes de promover o seu crescimento. Esses elementos são necessários para a síntese e para as funções normais dos componentes celulares. No ambiente, os microrganismos encontram os nutrientes nas formas de compostos orgânicos e/ou inorgânicos. Desta forma, podem desenvolver-se em meios inteiramente inorgânicos, outros em meios orgânicos ou mistos [10].

Para realizar estudos de colônias microscópicas é utilizado o método chamado meio de cultura, estes utilizam nutrientes necessários para promover o crescimento. Podem ser sólidos, líquidos ou semissólidos. Necessita ter em sua

composição nutrientes considerados essenciais e em concentrações relevantes para que não ocorra a inibição do crescimento. Cada meio deve ser esterilizado após a preparação. O objetivo desta etapa é eliminar quaisquer organismos vivos classificados como contaminantes. Depois de preparada, o meio de cultura deve ser mantido em local não contaminado para que esteja em perfeitas condições de uso [1].

Para a realização do estudo do crescimento microbiano, a equipe optou por realizar o antibiograma, este é uma metodologia utilizada para medir a sensibilidade de microrganismos a antimicrobianos. O antibiograma mais barato e utilizado no Brasil e no mundo é o por disco de difusão. Este método possui diversas vantagens como: simplicidade, habilidade de testar grande números de organismos e flexibilidade de escolha do antimicrobiano a ser testado. [12].

1.3 A busca por ativos inibidores de bactérias

Considerando o grave problema da multirresistência dos microrganismos aos quimioterápicos, atualmente disponíveis e o interesse em buscar alternativas de produtos naturais, estudos realizados já demonstram a atividade antimicrobiana da *A. brasiliensis* [13], o que aumenta a importância de estudos que demonstram sua atividade biocida.

De acordo com Phelps [14] a resistência dos pequenos seres vivos afeta países desenvolvidos e em desenvolvimento, tornando difícil encontrar e trazer novos antimicrobianos para o mercado. Essa resistência de bactérias se deve ao uso descontrolado de antibióticos. Entre os requisitos de pesquisa para novas possibilidades, estudiosos identificaram a necessidade de voltar à base de tudo, o uso de plantas. Azevedo [15] diz que, atualmente, as pesquisas estão voltadas para encontrar o agente ideal, ou seja, o mais eficaz, menos tóxico, de menor custo e com menor evidência de resistência.

A ação de combater das plantas resulta de sua capacidade de produzir substâncias antimicrobianas. Machado afirma:

O conhecimento tradicional atualmente é uma fonte para pesquisas na busca por novos compostos biologicamente ativos e como terapêutica efetiva que contemple os cuidados atuais para a saúde. Políticas de saúde utilizando estas fontes têm sido incentivadas por

organizações internacionais e nacionais, como a Organização Mundial da Saúde e o Ministério da Saúde do Brasil [16].

Países que utilizam legislações de uso dos fitoterápicos: Canadá (Natural Health Products), Comunidade Europeia (Tradicional Herbal Medicines) e México (Remédio Herbolário). Outros países, como Argentina e Paraguai, apenas registram seus medicamentos por uso tradicional [17].

A Organização Mundial de Saúde (OMS), aconselha que referências, quanto ao uso de medicamentos naturais, devem ser fornecidas à sociedade com segurança e eficácia comprovada, porém não possui um documento específico que direciona as regras de como realizar os procedimentos [18].

O problema da resistência de microrganismos aos antibióticos está piorando e o uso futuro desses é incerto [19]. Portanto, medidas devem ser tomadas para reduzir esse problema, como controlar o uso de antibióticos e realizar pesquisas para entender melhor os mecanismos genéticos de resistência e continuar pesquisando novos meios em combater, principalmente de forma natural [20].

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Análise

Os processos de preparo ocorreram no laboratório microbiológico do Centro Paula Souza ETEC Júlio de Mesquita, localizado no centro de Santo André.

Três amostras de *A. brasiliiana* foram coletadas de locais distintos e no laboratório, os caules e folhas foram lavados em água corrente e secados em papel toalha. Foi utilizado aproximadamente 10 gramas de cada amostra para a maceração do seu extrato natural.



Figura 1: Imagens das amostras coletadas.

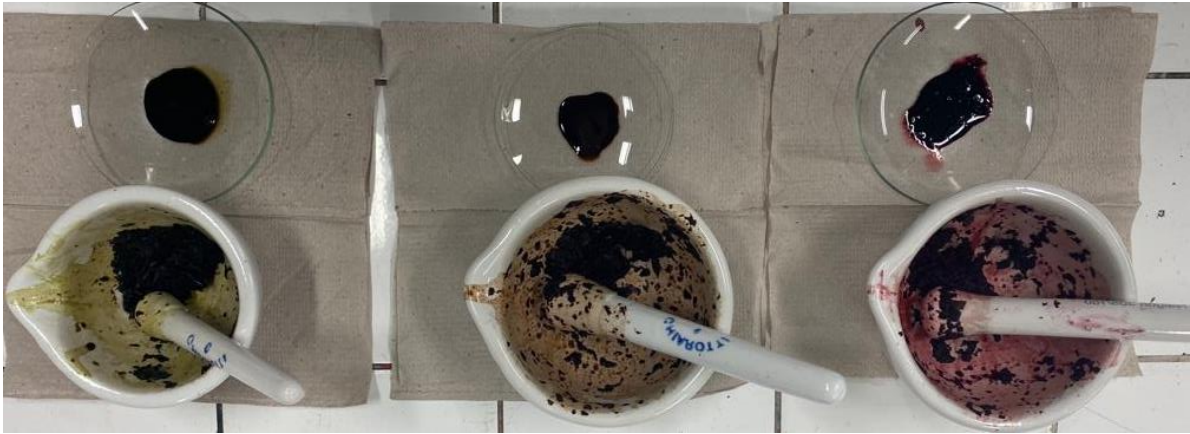


Figura 2: Ordem das amostras após maceração.

No teste do antibiograma foram utilizadas 4 cepas bacterianas (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC)*) para inoculação em placas de Petri contendo Ágar Nutriente. Cada cepa foi transferida e semeada por toda superfície do meio de cultura e identificada com o microrganismo utilizado.

Os extratos naturais foram transferidos para vidros de relógio, onde os discos de difusão foram imergidos e posicionados nas placas de Petri. A incubação ocorreu em estufa de 25°C por 24 horas.

2.2 Resultado

Como resultado esperado e satisfatório, pode-se observar o halo de inibição de crescimento em todas as cepas bacterianas, mas não em sua totalidade (figura 1).

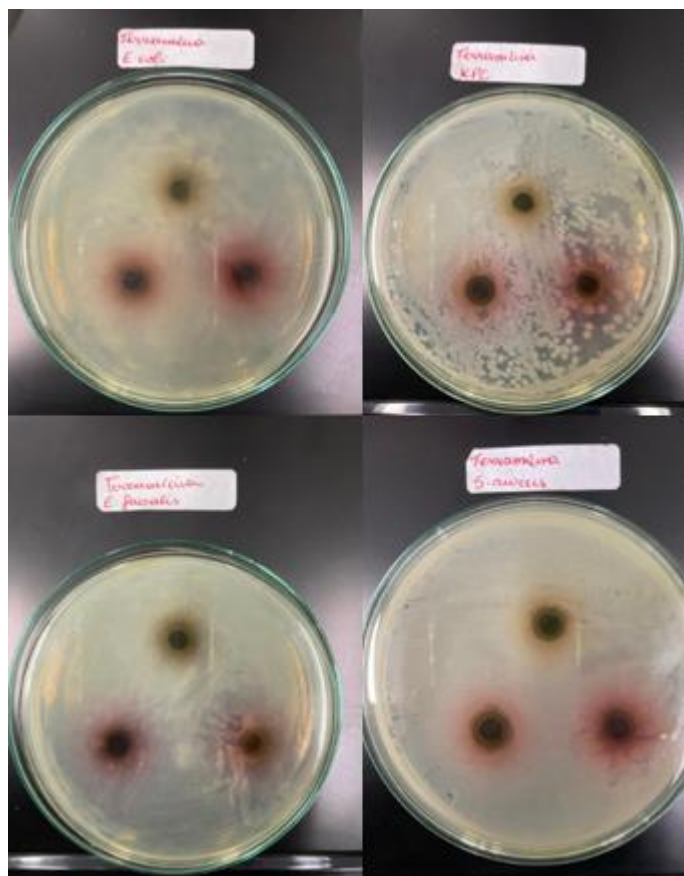


Figura 3: Ordem dos extratos no sentido anti-horário são os extratos naturais 1, 2 e 3.

Apenas na cepa de *S. aureus* apresentou inibição em todos os extratos naturais. A *E. coli* teve inibição apenas no extrato 3. A KPC apresentou inibição nos extratos 2 e 3. E a *E. faecalis* apresentou inibição no extrato 1.

Para a medição dos halos, foi necessário a medição com régua. As inibições são medidas em sua totalidade, na somatória dos halos com o diâmetro do disco de difusão (5 mm), conforme Quadro 1.

Cepas Bacterianas	Extratos	Diâmetro (mm)
<i>E. coli</i>	1	0
	2	0
	3	7
KPC	1	0
	2	7
	3	7

<i>E. faecalis</i>	1	7
	2	0
	3	0
<i>S. aureus</i>	1	7
	2	9
	3	7

Quadro 1: Resultado do diâmetro dos halos de inibição.

Com os resultados obtidos, foi possível apurar a porcentagem de redução populacional em cada microrganismo a partir de um controle, sendo determinado por uma área de 20 mm. As tabelas 1,2,3 e 4 mostram os resultados apresentados.

Tendo como base uma alíquota da área da placa de petri, usar-se-á tal valor como referência para a taxa de redução da população de micro-organismos contidos nela. Sendo assim com base nos valores de redução, adota-se o valor de 20mm como base para efetuação de cálculos envolvendo a inibição das bactérias.

Utilizando-se como base os 20mm, tem-se os resultados obtidos pelas medições do total de inibição, isto é, a área total de inibição menos a área do disco embebido na solução do extrato. Se essa for bactericida, haverá um halo de inibição, ou seja, área a qual não houve proliferação de micro-organismos, essa é a área de inibição.

O cálculo do halo (área de inibição), dá-se pela subtração da área total onde não se teve propagação de bactérias, menos a área do disco embebido na solução antibacteriológica, assim obtendo o valor que é tido na relação da alíquota.

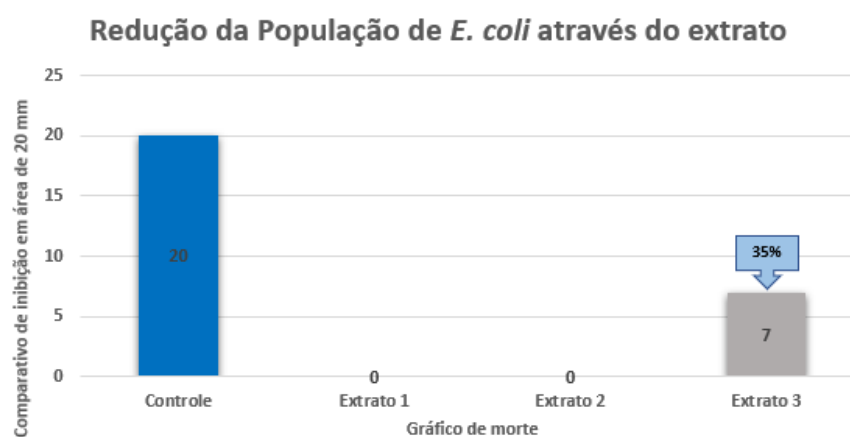


Tabela 1: Redução da população de *E. coli*.

Redução da População de KPC através do extrato

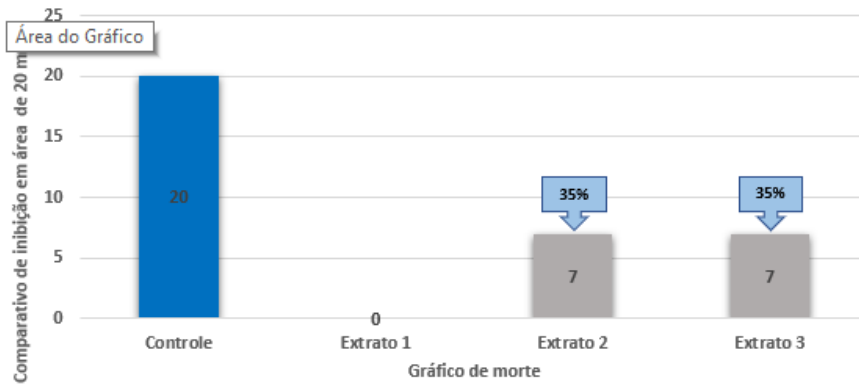


Tabela 2: Redução da população de KPC.

Redução da População de *E. faecalis* através do extrato

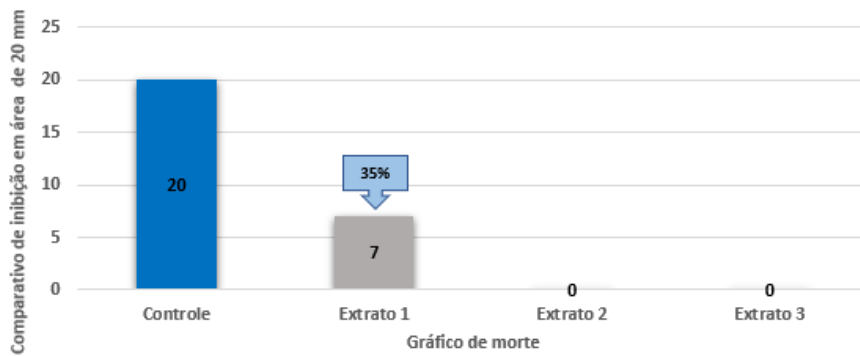


Tabela 3: Redução da população de *E. faecalis*.

Redução da População de *S. aureus* através do extrato

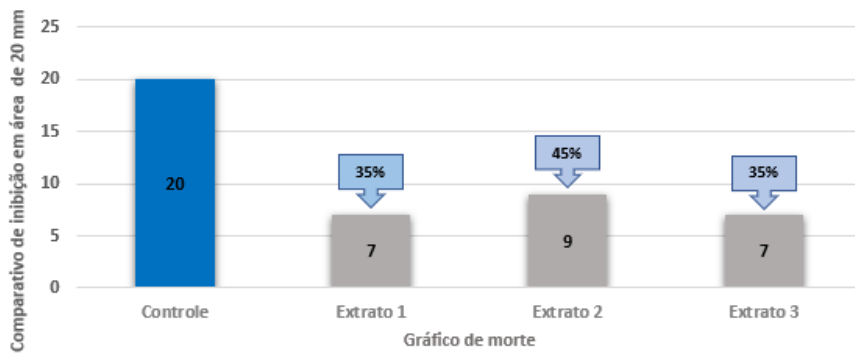


Tabela 4: Redução da população de *S. aureus*.

Utilizando-se como base os 20mm, tem-se os resultados obtidos pelas medições do total de inibição, isto é, a área total de inibição menos a área do disco embebido

na solução do extrato. Se essa for bactericida, haverá um halo de inibição, ou seja, área a qual não houve proliferação de micro-organismos, essa é a área de inibição. O cálculo do halo (área de inibição), dá-se pela subtração da área total onde não se teve propagação de bactérias, menos a área do disco embebido na solução antibacteriológica, assim obtendo o valor que é tido na relação da alíquota

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os extratos obtidos por maceração da *Alternanthera brasiliana* apresentaram resultados moderados, para a inibição de crescimento das bactérias avaliadas. Indicando assim que a espécie possui potencial para uso medicinal alternativo. A diferença inibitória observada entre os extratos sinaliza que fatores ambientais podem interferir em sua ação bactericida, sendo necessário um estudo mais aprofundado para compreender melhor essa interferência, bem como potencializar esta ação.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *Alternanthera brasiliana*

Abstract: The problem of microorganisms' resistance to antibiotics is worsening and plants have been an available resource for the research of new inhibition methods. The species *Alternanthera brasiliana* is widely used in folk medicine for its antimicrobial, anti-inflammatory and antitumor actions, thus contributing to accelerate ulcer healing. For this reason, it was chosen as the object of study to evaluate the antimicrobial activity by the antibiogram method. Three samples were collected from different sites, macerated, and diffusion discs were submerged in the natural extracts. Bacterial strains were seeded on Nutrient Agar and the diffusion discs were immersed and positioned on Petri plates. After 24 hours, some of the extracts showed halo of growth inhibition. The inhibitory difference observed between the extracts signals that environmental factors may interfere in their bactericidal action, being necessary a further study to better understand this interference, as well as potentiate this action.

Keywords: Natural Extract. *Alternanthera brasiliana*. Antimicrobial activity.

REFERÊNCIAS

- 1- MIGUEL, Marilis Dallarmi; MIGUEL, Obdulio Gomes. **Desenvolvimento de fitoterápicos**. Editora Tecmedd - RIBEIRÃO PRETO-SP – 2004.
- 2 - STASI, Luiz Claudio Di. **Plantas medicinais: Verdades e mentiras: o que os usuários e s profissionais de saúde precisam saber**. Editora Unesp. São Paulo-SP – 2007.
- 3 - **Guia de plantas em casa especial: Plantas medicinais**. 3. ed. - Editora On Line. São Paulo-SP. 2016.

- 4 - OLIVEIRA, José Emilio Zanzirolani de, et al. **Plantas Medicinais: Guia Terapêutico**. Editora UFV. Viçosa-MG. 2012.
- 5 - TIERRA, Michael. **Terapia Biomagnética e Fitoterapia**. 9. ed. - Editora Pensamento - São Paulo-SP, 2000.
- 6 - **Fitoterapia Brasil** - Disponível em: <https://fitoterapiabrasil.com.br/planta-medicinal/alternantherabrasiliana#:~:text=Nativa%20do%20Brasil%2C%20principalmente%20das,cultivo%20desta%20esp%C3%A9cie%20como%20ornamental>. Acesso em: 26 de novembro de 2022.
- 7 - DELAPORTE, Rosemeire Horwat; MILANEZE, Maria Auxiliadora; PALAZZO DE ELLO, João Carlos. **Estudo farmacognóstico das folhas de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze (Amaranthaceae)**, Acta Farmacêutica Bonaerense, v. 21, nº 3, 2002, p. 169-174.
- 8 – ROCHA, Patricia, MARCHETE, Rogério. **Principais atividades da planta *Alternanthera brasiliana*** – Revista saúde em foco – 10. ed. – 2018. Disponível em: <https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2018/12/119-PRINCIPAIS-ATIVIDADES-DA-PLANTA-ALTERNANTHERA-BRASILIANA-.pdf>.
- 9 - TORTORA, Gerard J. et al. Microbiologia. **Crescimento Microbiano**. Editora Artmed – 10. ed. - Porto Alegre – 2012.
- 10 - NASCIMENTO, José Soares do, **Biologia dos microrganismos**. Disponível em: http://portal.virtual.ufpb.br/biologia/novo_site/Biblioteca/Livro_4/6-Biologia_de_Microrganismos.pdf. Acesso em: 28 de novembro de 2022.
- 11 – SPLabor. Equipamentos para Laboratórios. **Meios de Cultura**. Disponível em: <https://www.splabor.com.br/wp-content/uploads/2020/07/EBook-Meios-de-Cultura-2020.pdf>. Acesso em: 26 de novembro de 2022.
- 12 – COSTA, Luan Felipe Rodrigues. **Sistema de automatização do antibiograma por disco-difusão em aplicação clínica e ambiental**. 2016. Disponível em: file:///C:/Users/claudia.ferreira/Downloads/2016_LuanFelipeRodriguesCosta.pdf. Acesso em: 27 de novembro de 2022.
- 13 - CAETANO, N.; SARAIVA, A.; PEREIRA, R.; CARVALHO, D.; PIMENTEL, M. C.A., MAIA, M. B. S. **Determinação de atividade antimicrobiana de extratos de plantas de uso popular como anti-inflamatório**. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 12, p. 132-135, 2002.
- 14 - PHELPS, C. E. **Bug/drug resistance: sometimes less is more**. Medical Care. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/3765142>. Acesso em: 28 de novembro de 2022.
- 15 - AZEVEDO, R. R.; ALMEIDA, V. G. A.; SILVA, E. M. F.; SILVA, A. L.; GOMES, N. R. S.; MATIAS, T. M. S.; DE SOUZA, L. I. O.; DOS SANTOS, A. **Potencial antioxidante e antibacteriano do extrato etanólico de plantas usadas como chás**. Revista Semente. Disponível em: <http://www.sbpcnet.org.br/livro/64ra/resumos/resumos/5419.htm>. Acesso em: 26 de novembro de 2022.

- 16 - PHELPS, C. E. **Bug/drug resistance: sometimes less is more.** Medical Care. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/3765142>. Acesso em: 28 de novembro de 2022.
- 17 - AZEVEDO, R. R.; ALMEIDA, V. G. A.; SILVA, E. M. F.; SILVA, A. L.; GOMES, N. R. S.; MATIAS, T. M. S.; DE SOUZA, L. I. O.; DOS SANTOS, A. **Potencial antioxidante e antibacteriano do extrato etanólico de plantas usadas como chás.** Revista Semente. Disponível em: <http://www.sbpcnet.org.br/livro/64ra/resumos/resumos/5419.htm>. Acesso em: 26 de novembro de 2022.
- 18 - MACHADO, B. F. M. T., Fernandes Junior, A., 2011. **Óleos Essenciais: Aspectos gerais e usos em terapias naturais.** Cadernos Acadêmicos Tubarão. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/137219/ISSN2175-2532-2011-03-02-105-127.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 27 de novembro de 2022.
- 19 - PANIZZA, Sérgio Tinoco. **Uso tradicional de plantas medicinais e fitoterápicos**- 1. ed.- Editora Doutor Fitoterapia - São Luís- MA.2012.
- 20 - OMS. **Instruções operacionais: informações necessárias para a condução de ensaios clínicos com fitoterápicos.** Brasília: Ministério da Saúde.
- 21 - HAIDA, K. S., et al. **Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais.** Arq. Ciênc. Saúde Unipar, Umuarama, v. 11, n. 3, p. 185-192, set./dez. 2007. Disponível em: <http://revistas.unipar.br/saude/article/viewFile/2037/1779>>. Acesso em: 29 de novembro de 2022.
- 22 - NASCIMENTO, G. G. F et al. **Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria.** Braz. J. Microb. São Paulo, v.31, p.247– 256, Oct. 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/bjm/v31n4/a03v31n4.pdf>>. Acesso em: 29 de novembro de 2022.
- 23 - **Guia de plantas em casa especial: plantas medicinais** -. 3.ed. – São Paulo: On Line, 2016.
- 24 - NEVES, Vitor José Miranda das. **Como preparar soluções químicas em laboratório**; Vitor José das Neves; (Colaboradores: Fernando Broetto; Paulo S. Marinelli). – Ribeirão Preto, SP: Tecmedd. – 2005, 2.ed. – outubro de 2007.