

ANÁLISE COMPARATIVA DA INTERFERÊNCIA DO EXTRATO ETANÓLICO DO *CROTON PIAUIHENSIS* NO CRESCIMENTO DAS BACTÉRIAS *S. AUREUS* E *P.* *AERUGINOSA*

Jean Parcelli Costa do Vale¹; Erica de Meneses Rabelo²; Priscilla Dayana Bastos Barroso³;
Edson Holanda Teixeira⁴; Hécio Silva dos Santos⁵

Resumo

Uma das maiores famílias dentre as dicotilodônias é a das Euforbiaceas. No Brasil o gênero mais comum é o *Croton* com cerca de 1.300 espécies. O *Croton piauihensis* Mull. Arg., conhecida popularmente como “velame”, é uma planta aromática nativa do nordeste brasileiro, utilizada na medicina popular para aliviar distúrbios intestinais. O objetivo deste trabalho foi comparar a ação do extrato da folha e do caule do *Croton piauihensis*, na inibição e estímulo do crescimento das bactérias gram-positiva (*S. Aureus*) e gram-negativa (*P. Aeruginosa*). Uma alíquota do estoque das espécies gram-positiva (*S. Aureus*) e gram-negativa (*P. Aeruginosa*), mantido em freezer -80 °C, foi utilizada para o cultivo em BHI (Brain Heart Infusion) caldo, por 24 horas e através de um repique, um novo inóculo foi realizado visando o crescimento por mais 18 horas. O extrato foi solubilizado em DMSO 10% (v/v) em água (Mili-Rios). Em seguida, a concentração inibitória mínima foi verificada através de metodologia realizada em micro placas de poliestireno com 96 poços. Na diluição seriada realizada, a substância foi diluída na proporção 1:2 até a diluição 1:128. As placas foram montadas colocando-se 100 µL de BHI caldo duas vezes concentrado e 100 µL da solução oriunda da diluição seriada. Em seguida, foram adicionados 5 µL da bactéria ajustada para uma concentração de 10⁶-10⁸ UFC/ml em cada poço. Foi utilizado como controle água do tipo Mili-RiOs. As leituras das placas foram realizadas em leitor de placas de ELISA (DO_{620nm}) logo após montagem da placa e com 24 e 48 h de incubação à 37°C com 10% de CO₂. Verificou-se que a altas concentrações, 500 µg/mL e 250 µg/mL o EECCP (extrato etnólico do caule do *Croton piauihensis*), interferiu o crescimento da bactéria *P. Aeruginosa*. O mesmo extrato interferiu o crescimento da bactéria *S. aureus*, nas mesmas condições. Da mesma forma, enquanto o EEFCP (extrato quinólico da folha do *Croton piauihensis*), inibiu o crescimento de *P. Aeruginosa*, para a *S. aureus* o mesmo extrato estimulou o seu crescimento. Pode-se afirmar que cada um dos extratos interferem de formas diferenciada diante das bactérias gram-positiva *S. Aureus* e gram-negativa *P. Aeruginosa*.

Palavras-chave: *Croton piauihensis*, estudo fitoquímico, atividade antimicrobiana.

Introdução

As plantas medicinais têm sido utilizadas para o tratamento, cura e prevenção de diversas doenças como uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. Esses tratamentos a base de plantas continuam a ter um papel essencial no cuidado à saúde, sendo estimado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) que aproximadamente 80% dos habitantes mundiais confiam na medicina tradicional para o cuidado primário de sua saúde. Além do fato de 74% substâncias químicas, originárias de várias espécies de plantas, consideradas como importantes fármacos utilizados atualmente em vários países, terem sido descobertas por meio de estudos químicos direcionados ao isolamento dos princípios ativos de plantas utilizadas na medicina tradicional (FENEL et al., 2004).

Levando em consideração a biodiversidade vegetal que existe no planeta (cerca de 250.000 espécies de plantas superiores) e que somente cerca de 5 a 15% foi investigada do ponto de vista fitoquímico e/ou farmacológico, as pesquisas com plantas superiores apresentam-se como uma fonte extremamente promissora para a descoberta de novas substâncias que possam ser utilizados no tratamento de várias doenças (ROJAS et al., 2003).

Dentre a grande variedade de vegetais utilizados na medicina popular, destacam-se os Crótons. O gênero *Croton* da família Euphorbiaceae, é subdividido em 40 seções e possui mais de 1.300 espécies de distribuição principalmente pantropical (FARNSWORTH et al., 1969). Para o Brasil, é o gênero com maior número de espécies da família, com um total de 350 espécies distribuídas em 29 seções (SALES, 2002). Para a Região Nordeste estima-se um total de 52 espécies distribuídas em 18 seções (BARBOSA-FILHO et al., 2006).

As bactérias são classificadas em dois grandes grupos: gram-positivas e gram-negativas, esta técnica muito usada para identificar bactérias, é feita com base em coloração desenvolvida pelo microbiologista dinamarquês Hans Christian Gram, a técnica de gram; dividindo as bactérias em dois grupos. As bactérias Gram-positivas são aquelas que obtêm uma coloração violeta ou azul escura através da técnica de gram. São o oposto das bactérias gram-negativas, que são incapazes de fixar a violeta de genciana, retendo em seu lugar o corante de contraste (safrina ou fucsina) que lhes dá a tonalidade vermelha ou rosa (PELCZAR, 2009). Este critério de identificação auxilia, por exemplo, o tratamento a estes agentes etiológicos (as bactérias), visto que as gram-negativas são mais tolerantes e as gram-positivas são mais sensíveis a antibióticos (penicilina) (PURVES et al., 2002).

Os objetivos deste trabalho foram, obter extratos do *Croton piaviihensis*, verificar a sua atividade bacteriana e comparar a ação do extrato da folha e do caule na inibição e estímulo do crescimento das bactérias gram-positiva (*S. Aureus*) e gram-netegativa (*P. Aeruginosa*).

Metodologia

A metodologia utilizada na realização deste trabalho, consiste em duas etapas distintas, sendo primeira relativa à preparação dos extratos e a segunda relativa ao teste de atividade biológica (MIC), dos mesmos, conforme descritas a seguir.

Os Extratos etanólicos foram preparados a partir de folhas e caules do *Croton piuihensis*, coletados na zona rural do município de Sobral/CE. O material botânico foi seco e submetido à extração exaustiva com o solvente (etanol) a frio. Os extratos foram concentrados evaporando-se o solvente utilizando evaporador rotativo.

Uma alíquota do estoque das espécies *gram-positiva* (*S. Aureus*) e *gram-negativa* (*P. Aeruginosa*), mantido em freezer -80 °C, foram utilizadas para o cultivo em BHI (Brain Heart Infusion) caldo, por 24 horas e através de um repique, um novo inóculo foi realizado visando o crescimento por mais 18 horas. O extrato foi solubilizado em DMSO 10% (v/v) em água (Mili-Rios) . Em seguida, a concentração inibitória mínima (MIC) foi verificada através de metodologia realizada em micro placas de poliestireno com 96 poços. Na diluição seriada realizada, os extratos foram diluídos na proporção 1:2 até a diluição 1:128. As placas foram montadas colocando-se 100 µL de BHI caldo duas vezes concentrado e 100 µL da solução oriunda da diluição seriada. Em seguida, foram adicionados 5 µL da bactéria ajustada para uma concentração de 10⁶-10⁸ UFC/ml em cada poço. Foi utilizado como controle água do tipo Mili-RiOs (controle de crescimento normal). As leituras das placas foram realizadas em leitor de placas de ELISA (DO_{620nm}) logo após montagem da placa com 24 h de incubação a 37°C com 10% de CO₂.

Os dados obtidos da leitura das placas foram tratados estatisticamente utilizando o programa GraphPad Prism, específico para este tipo de análise.

Resultados e Discussão

Os resultados mostrados a seguir, são representados graficamente a partir dos dados relativos a leitura de cada uma das placas contendo os extratos EECCP (extrato etanólico do caule do *Croton piuihensis*) e (EEFCP) (extrato etanólico da folha do *Croton piuihensis*) e (EEFCP)e bactéria.

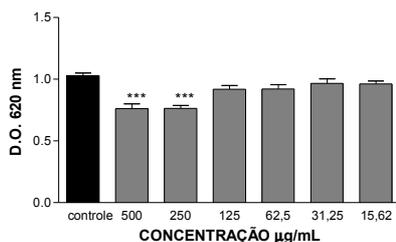


Figura 1 - Gráfico EECCP x P. aeruginosa

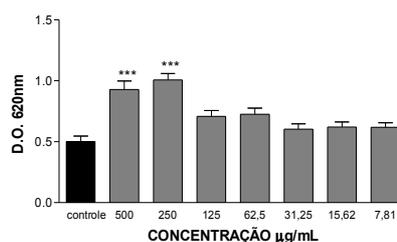


Figura 2 – Gráfico EECCP X S. Aureus

Nos gráficos 1 e 2 estão representados os dados relativos ao extrato etanólico do caule do *Croton piavhensises* frente às bactérias, gram-negativa (*P. Aeruginosa*) e gram-positiva (*S. Aureus*), quando comparadas com a água (controle de crescimento normal).

O gráfico 1 mostra que o EECCP inibiu o crescimento de *P. Aeruginosa* ($p < 0,001$) nas concentrações 500 a 250µg/mL. Verificou-se que o mesmo extrato nas mesmas condições, estimulou o crescimento de *S. aureus* ($p < 0,001$) nas concentrações 500 a 250µg/mL, apresentado no gráfico 2, quando comparadas com a água (controle de crescimento normal).

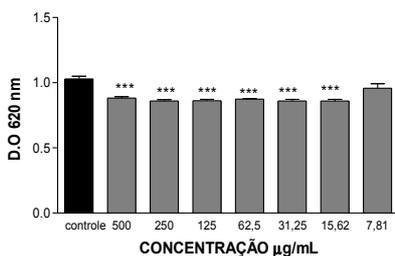


Figura 3 - Gráfico EEFCP x P. aeruginosa

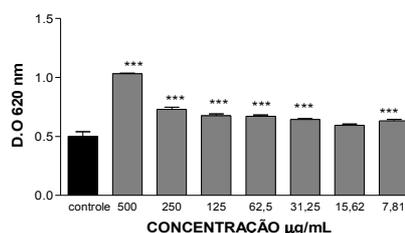


Figura 2 – Gráfico EEFCP X S. Aureus

Nos gráficos 3 e 4 estão representados os dados relativos ao extrato etanólico da folha do *Croton piavhensises* frente às bactérias, gram-negativa (*P. Aeruginosa*) e gram-positiva (*S. Aureus*).

A análise do gráfico 3 indica que o EEFCP inibiu o crescimento de *P. Aeruginosa* ($p < 0,001$) nas concentrações 500, 250, 125, 62,5 e 31,29µg/mL. Verificou-se que o mesmo extrato nas mesmas condições, estimulou o crescimento de *S. aureus* ($p < 0,001$) nas concentrações 500, 250, 125, 62,5 e 31,29µg/mL, como indicado no gráfico 4, quando comparadas com a água (controle de crescimento normal).

De acordo com os resultados obtidos, observa-se que os extratos EECCP e o EEFCP interferem de forma diferenciada no crescimento das bactérias gram-positiva (*S. Aureus*) e gram-negativa (*P. Aeruginosa*), inibindo o crescimento da gram-negativa e estimulando o crescimento da gram-positiva.

Outro fato observado é que o EEFCP apresenta-se mais eficiente que o EECCP, de acordo com os dados obtidos.

Considerações Finais

Pode-se firmar que existe forte indicativo de que os extratos EECCP e EEFCP interferem de forma diferenciada frente a bactérias gram-positivas e gram-negativas. Apresentando efeitos opostos, isto é, o mesmo extrato nas mesmas condições, inibe o crescimento das bactérias gram-negativas e estimula o crescimento das bactérias gram-positivas.

Entretanto um grupo maior de bactérias deverá ser testado frente aos extratos para comprovar o que foi observado nesta pesquisa.

Este trabalho nos traz uma perspectiva para que novos estudos possam ser realizados e os extratos do caule e da folha do *Croton* piuihensis possam ser utilizados como meio seletivo em determinadas situações.

Agradecimentos

CNPq e FUNCAP pelo auxílio financeiro.

Referências

BARBOSA-FILHO, J. M., SILVA, T. M. S., SETTE, I. M. F., JARDIM, J. G., SOUZA, E. B., SOARES, M. B. P., COSTA, J. F. O., SANTOS, R. R. Rubiaceae In: **Plantas da Caatinga: perfil botânico, fitoquímico e atividade biológica**. v.4, p. 427-434, 2006.

FARNSWORTH, N. R.; Blomster, R. N.; Messmer, W. M. **LOYDIAL**, 32(1), 1-28, 1969.

FENNELL, C.W.; LINDSEY, K.L.; MCGRAW, L.; SPARG, S.G.; STAFFORD, G.I.; ELGORASHI, E. E.; GRACE, O.M.; STADEN, J. Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: pharmacological screening and toxicology. **J. Ethnopharmacol.**, v. 94, p. 205-217, 2004.

PELCZAR Jr., M. J. **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. 2ª ed. São Paulo: Makron Books, v. 1, p. 48-51.

PURVES, W. K., SADAVA, D., ORIANI, G. H. e HELLER, H. C. **Vida: a ciência da biologia** – 6ª Ed – Porto Alegre: Artmed, 2002. pp 461-465.

ROJAS, R.; BUSTAMANTE, B.; BAUER, J.; FERNÁNDEZ, I.; ALBÁN, J.; LOOCK, O. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. **J. Ethnopharmacol**, v. 88, p. 199-204, 2003.

SALES, M. F. **Biodiversidade, conservação e uso sustentável da flora do Brasil**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco: Imprensa Universitária, 2002, p. 27-30.

¹Discente do Curso de Doutorado em Biotecnologia e Saúde. RENORBIO/UFC. jeanvale@hotmail.com;

²Discente do Curso de Mestrado em Biotecnologia. Universidade Federal do Ceará. ericamrabelo@gmail.com;

³Discente do Curso de Licenciatura em Química. Universidade Estadual Vale do Acaraú-UVA.; Priscilla@gmail.com;

⁴Orientador. Prof. Dr. Curso de Doutorado em Biotecnologia e Saúde. RENORBIO/UFC. edsonlec@gmail.com;

⁵Co-orientador. Prof. Dr. Curso de Química. Universidade Estadual Vale do Acaraú-UVA. helciodossantos@gmail.com;