

Comparação da atividade antimicrobiana de extratos de confrei – *Symphytum officinale* – e agentes químicos

Silas Osório de Rezende¹, silas_rezende@yahoo.com.br; **Wellington Vicente Braga**², **Marina Sodrê Braga**¹, **Fernanda Mara Fernandes**³; **Alexandre Horácio C. Bitencourt**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 na Faculdade de Minas (FAMINAS), Muriaé, MG;
4. Mestre em Botânica pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG; coordenador de Pesquisa e professor na 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.

RESUMEN: Comparación de la actividad antimicrobiana de extractos de consuelda–*Symphytum officinale* – y agentes químicos.

Los agentes químicos con actividad antimicrobiana pertenecen a los alcoholes y grupos amonio cuaternario. Sin embargo, con los avances en biotecnología y química sintética, los estudios han llevado a una revisión de las propiedades antimicrobianas de las especies de plantas diferentes. El presente estudio tuvo como objetivo comparar la actividad antimicrobiana de los extractos de *Symphytum officinale* y los productos químicos que se comercializan en cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Los ensayos se realizaron en el laboratorio de FAMINAS-Muriaé (MG). Para el análisis de control positivo la presencia de crecimiento bacteriano se comprobó, y en el control negativo, se observó ningún crecimiento bacteriano.

Palabras llave: extractos antimicrobianos, agentes químicos.

ABSTRACT: Comparison of the antimicrobial activity of comfrey extracts –*Symphytum officinale* – and chemical agents.

Chemical agents with antimicrobial activity belong to alcohols and quaternary ammonium groups. However with advances in biotechnology and synthetic chemistry, studies have led to a review of the antimicrobial properties of different plant species. The present study aimed to compare the antimicrobial activity of extracts of *Symphytum officinale* and chemicals marketed in strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The assays were conducted in the laboratory of FAMINAS-Muriaé (MG). For analysis of positive control the presence of bacterial growth was verified, and in the negative control, it was found no bacterial growth.

Keywords: antimicrobial extracts, chemical agents.

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 et al. (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 antinfeciosas 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. Porém, 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 et al., 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 seletivo 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, encontra-se 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 et al. (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*.

I – Materiais e métodos

Os bioensaios foram conduzidos no Laboratório de Microbiologia e Farmacotécnica da Faculdade de Minas (FAMINAS), Muriaé (MG).

1.1 – Coleta das amostras

Os produtos químicos foram adquiridos em estabelecimentos da cidade de Muriaé (MG); amostras de dois agentes químicos: A1 – Álcool etílico 96º 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-se a padronização 10⁶ 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). Adicionaram-se 25 mL dos produtos/extratos em tubos, desafiando os microrganismos em pauta *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.

II – 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 1, 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 1.

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,

TABELA 1 Potencial antimicrobiano

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

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, em que 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 patogênicos. O crescimento bacteriano e o crescimento de fungos e leveduras também se mostraram não significativo.

III – Considerações finais

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, realizadas algumas diluições, houve crescimento bacteriano significativo, enquanto o produto supracitado foi efetivo em todos os testes nas diferentes cepas.

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

Referências

ARDISSON, L. et al. Preparação e caracterização de extratos glicólicos enriquecidos em taninos a partir das cascas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Barbatimão). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Maringá, v. 12, n. 1, p. 27-34, s/m, 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 Cirúrgica Brasileira** [periódico na internet], v. 21, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/acb>>. Acesso em: 8 ago 2012.

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

MACHADO, K. E. **Atividade antimicrobiana dos extratos, frações e substâncias isoladas da *Eugenia umbelliflora* BERG.** 84 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2006.

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. **Revista Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Extensão do UNIPAM**, Patos de Minas, v. 15, n. 6, p. 31-44, 2009.

PELCZAR JUNIOR, 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.

REIS L. M. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de antisséptico e desinfetante em serviço público de saúde. **Revista Brasileira de Enfermagem**, Brasília, DF, v. 4, n. 6, p. 870-875, 2011.

SILVA, N. et al. Ocorrência de *Escherichia coli* em vegetais e resistência aos agentes de desinfecção de verduras. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 167-173, maio/ago. 2003.

SIRONI, P. B. **Avaliação microbiológica de produtos saneantes destinados à limpeza.** 2009. 43 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009).

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. **Revista em Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 2, p. 111-117, abr./2005.