

## UTILIZAÇÃO DO EXTRATO BRUTO DE *Eugenia uniflora* L. (PITANGA) EM TESTE ANTIBACTERIANO *IN VITRO*.

**Luciana de Souza Lorenzoni, Flávia Pirovani Arial Bernardo, Tatiane Moulin, Simony Marques da Silva Gandine, Msc. Tércio da Silva de Souza**

Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, Campus de Alegre, Rua Principal s/n, Distrito de Rive – CEP: 29.500-000, Alegre – ES, e-mail: [lucianaloren27@gmail.com](mailto:lucianaloren27@gmail.com); [tatiane\\_moulin@hotmail.com](mailto:tatiane_moulin@hotmail.com); [flaviapab@gmail.com](mailto:flaviapab@gmail.com), [marquesgandi@hotmail.com](mailto:marquesgandi@hotmail.com); [tssouza@ifes.edu.br](mailto:tssouza@ifes.edu.br)

**Resumo-** Através de estudos preliminares realizados com as folhas e caules de *Eugenia uniflora* L, conhecida popularmente como pitangueira, da família Myrtaceae, verificou-se que o se extrato etanólico bruto apresentou efeito antimicrobiano em bactérias provenientes da água de viveiro de peixes e bactérias provenientes do ar do ambiente de sala de aula. Os ensaios foram realizados através do teste de difusão em discos de papel-filtro sobre placas e a ação inibitória foi positiva, 8% superior para bactérias presentes na água de viveiro de peixe e 9% superior para bactérias presentes no ar quando comparando o halo de inibição dos discos de papel-filtro contendo 0,5µL do extrato etanólico bruto de *Eugenia uniflora* L. com o controle positivo contendo 0,5µL de Amoxicilina na concentração de 50mg/mL do antibiótico.

**Palavras-chave:** Pitanga, extrato bruto, *Eugenia uniflora* L, antimicrobiana  
**Área do Conhecimento:** Microbiologia

### Introdução

A condição sanitária de uma dada população humana é determinada, em larga escala, por sua capacidade de controlar eficazmente as populações microbianas. Os microrganismos podem ser removidos, inibidos ou mortos por agentes físicos ou químicos. Um dos maiores problemas de Saúde Pública, enfrentados nas últimas décadas foi o agravamento da resistência a antimicrobianos em populações bacterianas, principalmente de origem hospitalar (FIDLER, 1998; HUOVINEN; CARS, 1998; OKEKE *et al.*, 1999; OLIVEIRA *et al.*, 2006). Atualmente, registra-se um aumento significativo na frequência do isolamento de bactérias que eram reconhecidamente sensíveis às drogas de rotina, mas que se apresentam agora resistentes a todos ou quase todos os fármacos disponíveis no mercado, como ocorre com várias bactérias multirresistentes (SAKAGAMI; KAJAMURA, 2006). Esses dados antecipam os gravíssimos problemas que poderão trazer essas linhagens multirresistentes, caso não surjam novos antimicrobianos ou terapias alternativas para combatê-los. O problema da resistência tornou-se mais grave devido às dificuldade para a descoberta e o lançamento de novos antimicrobianos no mercado com o uso da metodologia tradicional de triagens, a partir de fungos e bactérias, o que vem tornando esses produtos cada vez mais escassos e mais caros (PHELPS, 1989). Estima-se que são necessários

mais de 10 anos, a um custo superior a 200 milhões de dólares, para que um antimicrobiano esteja à disposição da medicina (DICKSON; REDWOOD, 1998). Uma das alternativas usadas pelas indústrias farmacêuticas tem sido a modificação química da estrutura dos antimicrobianos já existentes, na tentativa de torná-los mais eficientes ou de recuperar a atividade prejudicada pelos mecanismos bacterianos de resistência (CHARTONE-SOUZA, 1998). A mudança de paradigma pode ser uma das saídas futuras para o impasse, ao pesquisar em primeiro lugar o alvo e só depois preparar o princípio ativo contra ele, por técnicas de biologia molecular. Entretanto, as alternativas ecológicas, que enfatizam o respeito pelo meio ambiente, devem ser mais efetivas e de menor custo, uma vez que se baseiam no uso mais cuidadoso, e apenas quando necessário. Por outro lado, torna-se relevante a pesquisa da ação inibitória do crescimento bacteriano ou do fluxo gênico de genes de resistência ou mesmo de reversão dessa resistência com o uso de produtos de origem natural (BROWN, 1999).

Na busca de novos antimicrobianos devemos enfatizar aqueles de origem vegetal, uma vez que o Brasil apresenta a maior biodiversidade do planeta e que muitas plantas já vêm sendo vastamente usadas e testadas há centenas de anos com as mais diversas finalidades por populações do mundo inteiro. A maior parte da população brasileira (80%) consome apenas 37% dos medicamentos disponíveis, dependendo

quase que exclusivamente de medicamentos de origem natural (STANGARLIN *et al.*, 1999; FUNARI; FERRO, 2005). Para isso, antes da determinação das frações ativas por métodos bioquímicos sofisticados, agora disponíveis, torna-se necessário e útil o uso preliminar de métodos de triagem de domínio popular ou das farmácias homeopáticas como macerados, chás, extratos aquosos, alcoólicos e outros. Deve-se lembrar que os princípios ativos podem estar presentes em diferentes frações de um composto ou ser liberado só após a ação metabólica do animal (CARVALHO, 2003).

O gênero *Eugenia* L. é um dos maiores da família Myrtaceae, com mais de 500 espécies, das quais cerca de 400 encontram-se no Brasil e assumem destaque especial por serem utilizadas como plantas medicinais. Dentro destes gêneros tem-se *Eugenia uniflora* L. (pitangueira), que se apresenta como um arbusto ou árvore semidecídua, de 4 a 10m de altura, copa estreita de tronco liso de cor pardo clara. As folhas são simples, cartáceas, de 3 a 7m de comprimento, com aroma característico. As flores são de cor branca, solitárias ou em grupos de 2-3 nas axilas e nas extremidades dos ramos. Os frutos são do tipo drupa. Globosos e sulcados, brilhantes e de cor vermelha, amarela ou preta, com polpa carnosa e agridoce, contendo 1 a 2 sementes (LORENZI; MATOS, 2002).

## Metodologia

As folhas e galhos da Pitangueira foram coletados no município de Alegre-ES, no mês de maio, o material botânico foi seco a temperatura ambiente durante sete dias.

Para a obtenção do extrato bruto utilizado neste trabalho, foram triturados folhas e pequenos galhos da planta *Eugenia uniflora* L. em um liquidificador. O extrato bruto da pitanga foi obtido a partir do material triturado por percolação a frio utilizando como solvente etanol hidratado (96°GL). O extrato obtido foi concentrado em banho-maria até a redução de 1/3 do volume do solvente. Em seguida foi armazenado em frasco âmbar e acondicionado em geladeira.

Os ensaios da atividade biológica do extrato bruto foram feitos através do teste de difusão em discos. O extrato foi testado em bactérias obtidas da água de um viveiro de peixes e bactérias obtidas do ar no ambiente de uma sala de aula.

Foram coletados 500mL de água de um viveiro de peixe, a partir dessa amostra uma alíquota de 1mL foi adicionada em um tubo de ensaio com 9mL de água peptonada estéril à 0,1%, obtendo-se a diluição  $10^{-1}$ . Diluições subsequentes foram efetuadas transferindo

asepticamente 1mL de cada diluição anterior para 9mL do mesmo diluente até  $10^{-5}$ . De cada tubo de ensaio com as respectivas diluições retirou-se 0,1mL de amostra que foi distribuída uniformemente com Alças de Dringalski na superfície de placas de Petri contendo Ágar Padrão de Contagem (PCA). Essas placas foram incubadas durante 24h a temperatura de 35°C.

Para obtenção de bactérias do ar, foi deixada uma placa de Petri contendo PCA aberta durante 24h em uma sala de aula. Esta placa foi incubada durante 24h a temperatura de 35°C. Após a incubação, retirou-se aleatoriamente através de alças de inoculação colônias de bactérias obtidas no PCA e transferiu-se para tubos de ensaio contendo o Caldo Triptona de Soja (TSB) que foram deixados na estufa a 35°C por 4h até a turvação do meio TSB.

Através de um swab de algodão estéril retirou-se uma alíquota da suspensão de bactérias multiplicadas no caldo TSB. Esse swab foi esfregado em toda a superfície de placas de Petri contendo PCA, girando a placa aproximadamente 60° cada vez, a fim de assegurar a distribuição uniforme do inóculo.

Discos de papel-filtro de seis milímetros de diâmetro esterilizados contendo 0,5µL de extrato bruto de *Eugenia uniflora* L. foram colocados sobre as suspensões bacterianas nas placas de Petri, totalizando três discos por placa. O teste controle foi realizado com discos de papel-filtro com 0,5µL de Amoxicilina na concentração de 50mg/mL e o controle negativo foi feito com etanol hidratado 96°GL. A incubação foi feita em estufa a 35°C durante 48h. Os testes foram realizados em triplicata e os resultados expressos em mm pela média aritmética do diâmetro dos halos de inibição formado ao redor dos discos nas três repetições.

## Resultados

Na análise dos resultados obtidos verificou-se que o extrato bruto *Eugenia uniflora* L. mostrou atividade inibitória sobre o crescimento microbiano nas placas.

Nas placas contendo bactérias presentes na água de viveiro de peixes os discos com 5µl de extrato bruto de *Eugenia uniflora* L. apresentaram um halo inibitório médio de 8,33mm na placa 1, 9,52mm na placa 2, 10,05mm na placa 3 e a amoxicilina 7,75mm, 8,50mm, 9,51mm nas respectivas placas. O álcool não apresentou ação de inibição das bactérias (Tabela 1).

Nas placas contendo bactéria presente no ar o halo de inibição proveniente do extrato de *Eugenia uniflora* L., foi em média de 9,39mm na placa 1, 10,06mm na placa 2 e 9,80mm na placa 3, a amoxicilina inibiu 8,38mm, 9,57mm, 8,81mm

nas respectivas placas, sendo que o álcool não apresentou inibição dos micro-organismos (Tabela 2).

Numa avaliação preliminar pode-se verificar que as substâncias presentes no extrato bruto da pitanga apresentaram uma ação de inibição maior

do que o antibiótico utilizado como controle positivo. Indicando uma ação inibitória 8% maior que o antibiótico para bactérias presentes na água do viveiro e 9% mais eficiente para bactérias presentes no ar.

Tabela 1: Média Aritmética do diâmetro dos halos de inibição em mm do extrato bruto de *Eugenia uniflora* L. na placa de Petri com bactérias da água do viveiro de peixes.

	Álcool	Amoxicilina	Disco 1	Disco 2	Disco 3	Média
Placa 1	0	7,75	7,54	7,18	10,28	8,33
Placa 2	0	8,50	9,66	8,56	10,35	9,52
Placa 3	0	9,51	9,93	10,04	10,19	10,05

Tabela 2: Média Aritmética do diâmetro dos halos de inibição em mm do extrato bruto de *Eugenia uniflora* L. na placa de Petri com bactérias do ar.

	Álcool	Amoxicilina	Disco 1	Disco 2	Disco 3	Média
Placa 1	0	8,38	9,47	8,97	9,72	9,39
Placa 2	0	9,57	9,60	9,59	10,98	10,06
Placa 3	0	8,81	9,78	10,54	9,07	9,80

## Discussão

No presente trabalho foi avaliada a ação antimicrobiana do extrato bruto da *Eugenia uniflora* L. (Pitanga) em bactérias presente na água de um viveiro de peixe e bactérias presentes no ar.

Através dos resultados preliminares (Tabela 1 e 2) pode-se verificar que as substâncias presentes no extrato etanólico bruto da pitanga apresentaram uma ação de inibição maior do que o antibiótico utilizado como controle positivo (amoxicilina). Indicando uma ação inibitória 8% maior que o antibiótico para bactérias presentes na água do viveiro e 9% mais eficiente para bactérias presentes no ar.

Pessini et al (2003) em um estudo avaliou 13 plantas utilizadas pela medicina popular para o tratamento de doenças infecciosas, dentre essas plantas a *Eugenia uniflora* inibiu o desenvolvimento de algumas cepas de bactérias e fungos, o que reforça a crença popular da utilização desta planta no tratamento de várias doenças infecciosas.

A utilização de plantas na medicina popular é uma prática muito antiga e “o conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos” (MACIEL et al, 2002), tornando-se cada vez mais importante a investigação, o estudo sistematizado e científico de diferentes espécies.

As folhas da pitangueira são ricas em taninos (LEE et al.,1997), glicosídeos de flavonóides (SCHEMEDA-HIRSCHMANN, 1995) e óleo volátil (SANTOS; MELLO, 2003). De acordo com Holtez et al (apud VEDRUSCOLO, RATES e MENTZ, 2005) alguns autores encontraram atividade antimicrobiana para o óleo volátil.

Segundo Singh e Shukla (apud GONÇALVES et al, 2005) a estrutura química dos compostos isolados de plantas, com raras exceções, podem agir como reguladores do metabolismo intermediário, ativando ou bloqueando reações enzimáticas seja agindo no núcleo do microorganismo ou no ribossomo, ou mesmo alterando estruturas presentes na membrana.

Castro et al (2010) estudou a ação antimicrobiana do extrato hidroalcoólico das folhas pitangueira em cepas de *Lactobacillus casei*, em função da importância desse microorganismo na progressão da cárie dentária. Nesse estudo o *Eugenia uniflora* apresentou ampla atividade antimicrobiana com halo de inibição de 10mm. Também utilizando o extrato hidroalcoólico, porém associado a dentifrício, Jovito et al (2009) analisou que este teve a mesma eficácia que um dentifrício comercial nos índices de saúde bucal.

Medeiros, Fonseca & Adreata (2004) consideram as plantas como “a identidade de um conjunto de pessoas, refletem o que são, o que pensam e suas relações com a natureza que os cerca. Esta sábia natureza lhes oferece alimentação, remédios, sustento rentável e desfrute da alma”. Mesmo vivendo em

uma época predominantemente tecnológica, a informações sobre plantas na medicina popular deveriam despertar cada vez o interesse científico para utilização no preparo de medicamentos.

## Conclusão

O presente estudo demonstrou que o extrato bruto da *Eugenia uniflora* L. apresentou atividade antimicrobiana *in vitro* em bactérias presentes na água do viveiro de peixes e bactérias presentes no ar do ambiente de uma sala de aula.

## Referências

- CARVALHO I. Introduction to molecular modeling of drugs in the medicinal chemistry experimental course. **Quim Nova** 26: 428-438, 2003.
- CASTRO, R.D.;FREIRES, I.A.; FERREIRA D.A.H.; JOVITO, V.C.; Paulo, M.Q. Atividade antibacteriana *in vitro* de produtos naturais sobre *Lactobacillus casei*. Int. **J. Dent**, Recife, 9(2):74-77, abr/jun, 2010.
- CHARTONE-SOUZA E. Bactérias ultra-resistentes: uma guerra quase perdida. **Ciência Hoje** 23: 26-35, 1998.
- BROWN, C. *Resistance mechanisms to drugs*. In: Brown R, Boger-Brown U, editors. *Cytotoxic drug resistance mechanisms*. Totowa: **Humana Press** p. 30-59, 1999.
- DICKSON M REDWOOD H. Pharmaceutical reference prices.How do they work in practice? **Pharmacoeconomics** 14: 471-479, 1998.
- FIDLER, D.P. Legal issues associated with antimicrobial drug resistance. **Emerg Infect Dis** 4: 169-177.1998.
- FUNARI CS, FERRO VO. Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade. **Rev Bras Farmacogn** 15: 178-182, 2005.
- GONÇALVES, A.L.; FILHO, A.A.; MENEZES, H. Estudo Comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.72, n.3, p.353-358, jul./set., 2005.
- HUOVINEN, P.; CARS, O. O Control of antimicrobial resistance: time for action. **Braz Med J** 317: 613-615, 1998.
- JOVITO, V.C.; ALMEIDA, L.F.D; FERREIRA, D.A.H.; MOURA, D.; PAULO, M.Q.; PADILHA, W.W.N. Avaliação *in vivo* de Dentifrício contendo extrato da *Eugenia uniflora* L. (Pitanga) sobre indicadores da saúde bucal. **Pesq.Bras.Odonoped.Clin.Integr**, João Pessoa, 9(1): 81-86, jan/abr 2009.
- LEE, M.H.;NISHIMOTO, S.; YANG, L.L.;YEN K.Y.; HANTO, T.; YOSHIDA, T.; OKUDA, T. Two macrocyclic hydrolysable tannin dimers from *Eugenia uniflora*. **Phytochemistry** 44: 1343-1349, 1997.
- Lorenzi, H. & Matos, F.J.A.. *Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas*. Instituto Plantarum, Nova Odessa, 512p., 2002.
- MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; JUNIOR, V.F.V, ECHEVARRIA, A.; GRYNBERG,N.F. Plantas Medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quim. Nova**, vol 25, n3, 429-438, 2002.
- MEDEIROS, M.F.T.; FONSECA, V.S.; ANDREATA, R.H.P. Plantas Medicinais e seus usos pelos sitiantes da Reserva Rio das Pedras, Mangaratiba, RJ,Brasil. **Acta. bot.bras.** 18 (2): 391-399-2004.
- OKEKE, I. N.; LAMIKANRA A., EDELMAN R. Socioeconomic and behavioral factors leading to acquired bacterial resistance to antibiotics in developing countries. **Emerg Infect Dis** 5: 18-27,1999.

- OLIVEIRA<sup>a</sup>, RAG; LIMA, EO; VIEIRA, WL; FREIRE, KRL; TRAJANO, VN; LIMA, IO; SOUZA, EL; TOLEDO, MS; SILVA-FILHO, RN;. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Rev Bras Farmacogn** 16: 77-82, 2006.
- OLIVEIRA<sup>b</sup>, FP; LIMA, EO; SIQUEIRA JÚNIOR, JP; SOUZA, EL; SANTOS, BHC; BARRETO, HM;. Effectiveness of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) essential oil in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical material. **Rev Bras Farmacogn** 16: 510-516, 2006.
- PESSINI, G.L.; HOLETEZ, F.B., SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G; DIAS-FILHO, B.P.; NAKAMURA, C.V. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. **Rev Bras Farmacogn** 13(Supl. 1): 21-24, 2003.
- PHELPS, CE. Bug/drug resistance: sometimes less is more. **Med Care** 27: 194-203, 1989.
- SAKAGAMI Y, KAJAMURA K. Bactericidal activitie of desinfectants against vancomycin-resistant Enterococci. **J Hosp Infect** 56: 140-144, 2006.
- SANTOS, S.C., MELLO, J.C.P. Taninos. In: Simões CMO, Shenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR (org.) Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, p.615-656, 2003.
- SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Flavonoids from *Calycorectes*, *Campomanesia*, *Eugenia* and *Hexachlamys* species. **Fitoterapia** 64: 373-374, 1995.
- STANGARLIN RJ, SCHWAN-ESTRADA KRF, NOZAKI MH. Plantas medicinais e controles alternativos de fi topatógenos. **Biotecnol Cienc Des** 11: 16-21, 1999.
- VEDRUSCOLO, G.S.;RATES, S.K.M.;MENTZ A.L. Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela Comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Rev Bras de Farmacogn.** 15(4), 361-372, Out-Dez 2005.