

EXTRATO ALCOÓLICO DE *TACHIGALI SUBVELUTINA* EXIBE LIMITADA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA CONTRA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Autores: Letícia Neres da Rocha¹, Fábio Lima Evangelista Segundo¹, Flávio Santos Lopes², Cláudia Vieira Prudêncio¹.

¹Universidade Federal do Oeste da Bahia/Centros das Ciências Biológicas e da Saúde, Campus Reitor Edgard Santos, Rua da Prainha, 1326, Morada Nobre - 47810-047 - Barreiras-BA, Brasil, leticia.r5778@ufob.edu.br, fabio.s2233@ufob.edu.br, claudia.prudencio@ufob.edu.br.

²Frutificar Cerrado, Barreiras - BA, Brasil. 1lopes.fs@gmail.com

Resumo

A resistência aos agentes antimicrobianos e a disseminação de patógenos como o *Staphylococcus aureus* representam uma séria ameaça à saúde pública global. As intoxicações alimentares causadas por *S. aureus*, devido à produção de enterotoxinas em alimentos, reforçam a urgência na busca por novas abordagens de controle. Nesse cenário, o uso de extratos de plantas nativas do bioma Cerrado, como a *Tachigali subvelutina*, emerge como uma alternativa promissora. Este estudo teve como objetivo avaliar o potencial antimicrobiano de extratos alcoólicos de *T. subvelutina* contra *S. aureus* por meio do método de diluição. Os resultados demonstraram que o extrato de *T. subvelutina* apresentou efeito bacteriostático significativo contra a cepa testada. A pesquisa incentiva mais estudos para a identificação dos compostos bioativos responsáveis por essa atividade e para a avaliação de sua aplicabilidade em contextos de segurança alimentar.

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana. Extratos vegetais. *Tachigali subvelutina*. Carvoeiro. *Staphylococcus aureus*. Concentração inibitória mínima.

Área do Conhecimento: Microbiologia.

Introdução

Staphylococcus aureus é uma bactéria gram-positiva, sendo a espécie mais patogênica dentre os estafilococos, principalmente as cepas coagulase-positivas, que se destacam pela produção de fatores de virulência e de enterotoxinas nocivas à saúde humana (Tortora *et al.*, 2024). *S. aureus* pode ocasionar doenças quando em contato com regiões de pele e mucosa lesadas ou quando suas toxinas são ingeridas nos alimentos, apesar de poder ser encontrado naturalmente em sítios anatômicos humanos, como nas vias nasais e no próprio tegumento (Santos, 2007; Silva; Feitosa; Rodrigues, 2017).

A emergência de cepas resistentes a agentes antimicrobianos, especialmente devido ao uso indiscriminado de antibióticos, foi classificada como uma das dez ameaças à saúde pública global (WHO, 2023), contribuindo para o agravamento de patologias sistêmicas associadas ao micro-organismo. Já a contaminação alimentar colabora para o surgimento de doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHAs), em geral relacionadas a casos de intoxicação alimentar aguda (Brasil, 2019).

As DTHAs causadas por *S. aureus* estão relacionadas à presença de enterotoxinas nos alimentos ingeridos, e são caracterizadas por desconforto abdominal, náuseas, vômito, com presença ou não de quadros diarreicos (Argudín; Mendoza; Rodicio, 2010). As principais fontes de contaminação envolvem leite e derivados, carnes e seus produtos, saladas e ovos (Santana *et al.*, 2010). A gravidade da infecção e a fácil transmissão do patógeno suscitam reflexões sobre a necessidade de alternativas aos agentes antimicrobianos já existentes, bem como de aprimorar as práticas de higiene.

Diante desse cenário, a procura por novas fontes mais seguras, sustentáveis, saudáveis e naturais exhibe o potencial dos extratos vegetais para a atividade microbicida e conservante em alimentos (Mostafa *et al.*, 2018). Neste sentido, as plantas nativas do bioma Cerrado carecem de estudos a respeito de suas atividades antimicrobiana e antibiofilme. A avaliação de potenciais biológicos nos extratos de vegetais nativos brasileiros é um passo importante para a descoberta de possíveis efeitos farmacológicos contra patógenos alimentares, como *S. aureus* (Ostrosky, 2008), e para aproveitar as potencialidades oferecidas pelos recursos naturais e pela biodiversidade nacional.

Portanto, este estudo teve por objetivo avaliar o potencial antimicrobiano de extratos alcoólicos de *Tachigali subvelutina*, popularmente conhecida como carvoeiro, sobre o crescimento de *S. aureus*.

Metodologia

Micro-organismos e condições de cultivo

A cultura de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 foi obtida por estoques de cultura mantidos a 20 °C em caldo infusão de cérebro e coração (BHI) acrescido de glicerol. A cultura foi cultivada em TSB a 35 ± 1 °C por um período de 24 h. As células foram centrifugadas a 2500 *g* e lavadas e ressuspensas em solução salina 0,85 %.

Preparo dos extratos vegetais

Os extratos alcoólicos de *Tachigali subvelutina* (carvoeiro) foram obtidos a partir de folhas secas em estufa a 40 °C por 48 h. Após a secagem, o material foi triturado, e o pó obtido armazenado em recipiente escuro e hermeticamente fechado até o momento de preparo dos extratos (Pinho *et al.*, 2012). Para preparo dos extratos, o material foi infundido em etanol 99%. Após a extração, o material foi concentrado por rotaevaporação e armazenado em ambiente escuro a 4 °C, conforme proposto por Krychak-Furtado (2006). Antes do uso, o extrato foi ressuspensionado em solução de DMSO 1%

Avaliação da atividade antimicrobiana

Para avaliar o efeito dos extratos sobre o crescimento de *S. aureus*, foram realizados testes de microdiluição de acordo com os parâmetros sugeridos pelo *Clinical and Laboratory Standard Institute*, com pequenas modificações (CLSI, 2024). Para isso, a cultura era inoculada em concentração aproximada de 10^5 UFC/mL em microplacas de 96 poços em caldo TSB, acrescido ou não de concentrações entre 0,019 e 10 mg/mL dos extratos. A solução de DMSO (1%) foi utilizada como controle negativo. As placas foram incubadas em leitora de ELISA (Thermo Scientific™ Varioskan™ LUX Multimode Microplate Reader) a 35 °C por 24 h, com leituras de absorbância a 600 nm a cada 15 minutos.

Após a incubação, o conteúdo das placas era coletado e as alíquotas plaqueadas em ágar padrão de contagem (PCA) para avaliação de crescimento. As placas foram incubadas a 35 °C por 24 horas.

Foi considerada como concentração mínima inibitória (CIM), a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano, e como concentração mínima bactericida (CMB), a menor concentração em que não foi observado crescimento de colônias em PCA.

Foram realizadas quatro repetições independentes e a existência de diferenças foi avaliada com uso do teste de Tukey, a 0,05, e auxílio do programa Agroestat.

Resultados

Os dados demonstram que a maior parte das concentrações utilizadas não interferiu no crescimento do patógeno (Tabela 1), o que releva uma atividade antimicrobiana limitada. Somente a maior concentração (10 mg/mL) reduziu o crescimento do micro-organismo. Nenhuma das concentrações avaliadas apresentou efeito bactericida.

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

Tabela 1 - Dados de densidade óptica máxima da cultura de *S. aureus* em caldo TSB acrescido ou não de diferentes concentrações do extrato etanólico *Tachigali subvelutina* (carvoeiro), após 24 h de incubação a 35 °C.

Parâmetro/concentração mg/ml	DO máxima	Nº de poços com crescimento ¹
10,000	0,22400 b	16
5,000	0,66325 a	16
2,500	0,58650 a	16
1,250	0,43575 ab	16
0,625	0,43900 ab	16
0,312	0,53400 a	16
0,156	0,5115 ab	16
0,078	0,55125 a	16
0,039	0,55075 a	16
0,019	0,57500 a	16
Controle	0,56800 a	16

Fonte: elaborado pelos próprios autores.

Discussão

A crescente resistência de microrganismos a antimicrobianos convencionais evidencia a necessidade urgente de busca e desenvolvimento de novas substâncias com atividade antimicrobiana (who, 2020; laxminarayan *et al.*, 2013). Neste contexto, plantas nativas constituem uma fonte promissora de compostos bioativos que podem servir como alternativas terapêuticas ou modelos para a síntese de novos fármacos (cowan, 1999; silva *et al.*, 2021). O Cerrado, considerado a savana mais biodiversa da América, apresenta uma riqueza de espécies vegetais ainda pouco exploradas em estudos de potenciais biológicos (klink & machado, 2005; oliveira *et al.*, 2017). A avaliação de espécies nativas apresenta oportunidades para a descoberta de novos antimicrobianos, e estimula o uso sustentável dos biomas (mostafa *et al.*, 2018; ostrosky *et al.*, 2008; silva *et al.*, 2014). Tais estudos são particularmente importantes em biomas pouco conhecidos e altamente ameaçados por atividades antrópicas, como o Cerrado, e se alinham aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) relacionados à vida terrestre (ODS 15) e à saúde e bem-estar (ODS 3), ao promover o uso sustentável da biodiversidade e incentivar a pesquisa científica responsável (onu, 2015; wwf, 2020).

Neste contexto, plantas da família Fabaceae são conhecidas por apresentarem uma ampla diversidade de metabólitos secundários, como taninos, flavonoides, alcaloides e derivados fenólicos, que são associados à atividade antimicrobiana, seja por atuarem na desestabilização da membrana celular bacteriana, na inibição de enzimas essenciais ou na interação com o material genético dos microrganismos (cowan, 1999). Todavia, os resultados indicam uma limitada atividade antimicrobiana do extrato etanólico de *T. subvelutina*, observada pela redução do crescimento em altas concentrações do extrato, mas sem atividade bactericida (Tabela 1).

Resultados distintos foram observados com outras plantas da mesma família, como *Erythrina velutina* e *Libidibia ferrea*, cujos extratos etanólicos apresentaram atividade antimicrobiana contra microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos (almeida *et al.*, 2016; oliveira *et al.*, 2018). Um dos exemplos é o estudo de Virtuoso *et al.* (2005), que investigaram a atividade antibacteriana das cascas de *E. velutina* por difusão em disco e observaram uma CIM de 312 mg/ml e CIM contra *S. aureus* e *Streptococcus pyogenes*. Já Ferreira *et al.* (2016) avaliaram o efeito antimicrobiano do extrato etanólico de *L. ferrea* por difusão em disco, e observaram atividade antimicrobiana contra cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella bongori* e *S. aureus*. A atividade antimicrobiana destes extratos foi atribuída à alta

¹ O número de poços com crescimento pode variar entre 0 e 16.

concentração de compostos fenólicos e taninos extraídos nesse tipo de solvente (almeida *et al.*, 2016; oliveira *et al.*, 2018).

Por outro lado, em uma triagem realizada com nove espécies arbóreas da família Fabaceae, apenas *Erythrina caffra* apresentou atividade antimicrobiana relevante. As demais espécies, não demonstraram efeito significativo nos testes conduzidos sendo esses testes ensaios de microdiluição em caldo, visando determinar a CIM, e ensaios de difusão em ágar, verificando halos de inibição contra diferentes microrganismos. Os testes incluíram bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*), Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*) e a levedura *Candida albicans* (eloff, mcgaw; 2014). Estes resultados evidenciam que, embora a família seja rica em metabólitos bioativos, a atividade antimicrobiana não é universal, e depende da composição fitoquímica específica e das condições de extração empregadas (cowan, 1999; ostrosky *et al.*, 2008).

Geralmente, o etanol é um composto eficiente para extração de compostos de maior polaridade e diversidade química, dada sua capacidade de solubilizar metabólitos de média e alta polaridade (silva *et al.*, 2014; khalil *et al.*, 2024). Assim a limitada atividade antimicrobiana observada no presente estudo pode estar relacionada a baixa concentração ou mesmo ausência de metabólitos secundários com ação antimicrobiana no material vegetal testado, uma vez que a composição fitoquímica pode variar significativamente entre espécies e até mesmo entre diferentes partes da mesma planta (cowan, 1999). Outra hipótese está relacionada a problemas no processo de extração, como tempo de contato, proporção de solvente e condições de secagem, que podem afetar a eficiência da obtenção dos compostos ativos (ostrosky *et al.*, 2008; balouiri; sadiki; ibnsouda, 2016). Variações metodológicas e diferenças entre as cepas utilizadas como indicadores também podem influenciar o rendimento e a bioatividade dos extratos (ostrosky *et al.*, 2008; balouiri; sadiki; ibnsouda, 2016).

Conclusão

Os resultados indicam que o extrato avaliado possui potencial antimicrobiano, ainda que restrito a concentrações mais elevadas, e não apresentou efeito bactericida. Esses achados reforçam a necessidade de continuidade de estudos, incluindo a avaliação de outras espécies vegetais, diferentes concentrações e metodologias complementares, a fim de se obter um panorama mais abrangente sobre a eficácia antimicrobiana e antibiofilme dos extratos estudados.

Referências

ARGUDÍN, M. Á.; MENDOZA, M. C.; RODICIO, M. R. Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. **Toxins**, v. 2, n. 7, p. 1751-1773, 2010. DOI: 10.3390/toxins2071751.

BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v.6, n. 2, p. 71-79, 2016. DOI:10.1016/j.jpha.2015.11.005. 26 ago. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA)**. Brasília, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha>. Acesso em: 17 ago. 2025.

CLSI (CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE). **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. Approved standard M07, Wayne, PA: CLSI. 2024.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v.12, n. 4, p. 564-582, 1999. DOI: 10.1128/cmr.12.4.564.

FUNKE, GERARD J. TORTORA; CHRISTINE L. CASE; WARNER B. BAIR III, DEREK WEBER; BERDELL R. **Microbiologia**. 14. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2024.

A Ciência do **NANO** e seu impacto transformador no **MACRO**

KRYCHAK-FURTADO, S. **Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no estado do Paraná: testes in vitro e in vivo**. 2006. 147p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

MOSTAFA, A. A. *et al.* Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 2, p. 361–366, 2018. DOI: 10.1016/j.sjbs.2017.02.004.

OSTROSKY, E. A. *et al.* Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301–307, abr. 2008. DOI: 10.1590/S0102-695X2008000200026.

PINHO, L. DE. *et al.* Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoolicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. **Ciência Rural**, v. 42, n. 2, p. 326–331, 2012.

SANTANA, E. H. W. DE. *et al.* Estafilococos em alimentos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 545–554, jul. 2010. DOI: 10.1590/1808-1657v77p5452010.

SANTOS, A. L. *et al.* *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413–423, 2007. DOI: 10.1590/S1676-24442007000600005.

SILVA, J. F. M.; FEITOSA, A. C.; RODRIGUES, R. M. *Staphylococcus aureus* em alimentos. **DESAFIOS - Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, v. 4, n. 4, p. 15–31, 2017. DOI: 10.20873/uft.2359-3652.2017v4n4p15.

VIRTUOSO, S. *et al.* Estudo preliminar da atividade antibacteriana das cascas de *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae (Leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 2, p. 137–142, abr. 2005. DOI: 10.1590/S0102-695X2005000200012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Antimicrobial Resistance**, Fact Sheet. 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Acesso em: 17 ago. 2025.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo e ao Conselho Científico de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo apoio financeiro, à UFOB pelo suporte.