

## AÇÃO ANTIBACTERIANA DO EXTRATO DE *Phyllanthus niruri* FRENTE À *Staphylococcus aureus* E *Pseudomonas aeruginosa*

Maria Eduarda Xavier Pedroso<sup>1</sup>, Camila Delinski Bet<sup>2</sup>, Laís dos Santos<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Acadêmica do Curso de Biomedicina, Campus Ponta Grossa/PR, Universidade Cesumar – UNICESUMAR. Programa Voluntário de Iniciação Científica (PVIC/Unicesumar). mxavierpedroso@gmail.com

<sup>2</sup> Coorientadora, Mestre. Departamento de Saúde, UNICESUMAR. Docente – UniCesumar. camila.bet@unicesumar.edu.br

<sup>3</sup> Orientadora, Mestre. Departamento de Saúde, UNICESUMAR. Docente – UniCesumar. dosantos.lais@yahoo.com.br

### RESUMO

A resistência bacteriana contra espécies patogênicas como consequência do uso indiscriminado e descarte incorreto de medicamentos torna a produção de novos antibióticos essencial. Nesse sentido, esse estudo teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana da espécie de planta *Phyllanthus niruri*, conhecida como quebra-pedra, através do método de antibiograma baseado em disco-difusão. Foram analisadas duas espécies de bactérias patogênicas: *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* em diferentes concentrações do extrato. Os extratos foram obtidos pelo método de maceração utilizando solução hidroalcoólica 70% como solvente. Os halos de inibição foram medidos após 24 h. Além disso, foi realizada uma pesquisa bibliográfica a fim de explorar os componentes encontrados na planta, bem como investigar possível toxicidade com a intenção de avaliar inocuidade para saúde. Na primeira análise a planta medicinal não manifestou atividade antimicrobiana frente aos microrganismos. Na segunda análise apresentou baixa atividade bacteriostática contra *Staphylococcus aureus*, não sendo possível avaliar frente a *Pseudomonas aeruginosa*. Sendo assim, é necessário a continuidade deste estudo com diferentes métodos de extração ou diferentes concentrações do extrato. A análise da sensibilidade microbiana é fundamental para análise de viabilidade do extrato como recurso terapêutico, atuando de forma sinérgica com outros compostos a fim de intensificar o efeito destes medicamentos, já que possui potencial de apresentar ação antibacteriana.

**PALAVRAS-CHAVE:** Antibiograma; Atividade antimicrobiana; Fitoterápicos.

## 1 INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) diversos antibióticos estão se tornando ineficazes de forma rápida em razão da utilização inadequada desses medicamentos a qual procede a resistência bacteriana. Desse modo, torna-se um grave problema de saúde pública, visto que a resistência reduz a eficácia dos tratamentos o que provoca aumento das hospitalizações, morbidade e mortalidade (OMS, 2017).

Nesse contexto a medicina popular é importante para a pesquisa científica em virtude da utilização de plantas medicinais como auxiliar no tratamento de doenças. O uso de plantas como forma de tratamento de enfermidades é praticado desde a Antiguidade e estes recursos naturais foram utilizados para sintetizar diferentes medicamentos através da extração de princípios ativos. Por meio de um conhecimento prévio, é possível encontrar fontes alternativas no desenvolvimento de novos fármacos, bem como na criação de tratamentos terapêuticos (LOPES; NASCIMENTO, p.124, 2017).

*Phyllanthus niruri*, também chamada de “quebra-pedra”. Uma espécie frequentemente aplicada pela medicina popular devido a suas propriedades farmacológicas: efeito analgésico, anti-inflamatório, relaxante muscular, além de ser empregada no tratamento de problemas renais (SOUSA, 2017; AITA *et al.*, 2009). Estas propriedades são derivadas de substâncias ativas sintetizadas no metabolismo secundário da planta, nela encontram-se: taninos, triterpenos, lignanas, linalol, ácido salicílico, flavonóides e alcalóides (SOUSA, 2017; NASCIMENTO, 2000).

Entretanto, muitas plantas podem possuir substâncias tóxicas em sua composição e dependendo da dosagem, podem ser prejudiciais a saúde do ser humano. Em se tratando d *P.niruri*, o Programa de Plantas Mediciniais da Central de Medicamentos do Ministério da Saúde relata que essa espécie não apresenta efeito tóxico agudo (BRASIL, 2006 apud

OLIVEIRA *et.al*, 2019). Todavia, o seu uso é proibido para grávidas, visto que pode ser abortivo (OLIVEIRA *et. al*, 2019).

Em virtude da necessidade de novos antibióticos e das propriedades farmacológicas dessa espécie de planta, esse estudo apresenta a atividade antimicrobiana do extrato de *P.niruri* frente a duas bactérias patogênicas de prioridade para desenvolvimento de novos medicamentos: *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (OMS, 2017). Com isso pretende-se atrair atenção de outros pesquisadores para o tema, bem como para que possa servir como base na formulação de fitoterápicos.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Conforme a padronização da ANVISA (2003) a técnica utilizada para avaliar a sensibilidade de patógenos de crescimento rápido: *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* foi a de antibiograma por disco difusão. Para obtenção do extrato, a metodologia foi adaptada ao estudo de Maia (2020), na qual a rasura da planta ficou submersa em uma solução hidroalcoólica a 70% por 8 e 35 dias consecutivos.

Após esse período, duas amostras do macerado foram filtradas em papel filtro. Para obtenção do extrato bruto, foi submetido 670 mL do produto da primeira amostra em banho por 48 h na temperatura de 70°C. Enquanto para evaporar o solvente do macerado de 35 dias, 500 mL da amostra foi transferida para um balão o qual foi submetido a um evaporador rotativo a vácuo e 40 rpm acoplado a um sistema de banho e aquecimento na temperatura de 70°C por 10 h.

Para análise do antibiograma, foram utilizados discos de papel filtro onde foi aplicada uma alíquota de 10 µL (DOMINGUES *et. al*, 2015) de diferentes diluições: 0,16, 0,56 e 0,96 mg mL<sup>-1</sup> com base no estudo de Silva *et.al* (2010). Na segunda análise foram avaliados em diluições menores: 16, 56, 96, 160 e 510 mg mL<sup>-1</sup>. Em seguida, os microrganismos foram transferidos para tubos de ensaio contendo solução salina a 0,9% onde atingiram a concentração de 0,5 da escala de *MacFarland*.

Após ajuste do inóculo, um *swab* estéril foi introduzido na suspensão bacteriana e semeado na placa com meio *Mueller Hinton*. Posteriormente, com auxílio de uma pinça estéril os discos foram inseridos nas placas das quais foram incubadas a 37°C por 24 h. Após esse período, foram avaliadas a presença e o tamanho dos halos formados a fim de determinar atividade bactericida e bacteriostática.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato bruto obtido pelo método de evaporação em banho apresentou um aspecto pastoso com rendimento de 7.69%. Enquanto o extrato obtido através da técnica de evaporação por rotaevaporador a vácuo apresentou característica fluída, não houve cálculo do rendimento.

Nesta pesquisa o extrato bruto obtido por maceração pelo período de 8 dias seguido de banho por 48 h não manifestou efeito antimicrobiano nas concentrações 0,16, 0,56, 0,96 mg mL<sup>-1</sup>. A amostra ficou exposta ao ar e a temperatura por muito tempo. Sugere-se que o extrato sofreu oxidação e conseqüentemente, perdeu os compostos bioativos. Sendo assim, não foi suficiente para expressar uma ação antibacteriana (FALCÃO, 2016).

Entretanto, na amostra obtida através da maceração por 35 dias consecutivos seguido do evaporador rotativo a vácuo, nas concentrações 160 mg mL<sup>-1</sup> e 510 mg mL<sup>-1</sup> apresentou um halo de 6 mm e 8 mm frente a *S.aureus*, enquanto nas outras medidas não houve formação de halo. Sendo assim, têm-se uma média de 2,8 e um desvio padrão de aproximadamente 3,9. De acordo com Ribeiro *et.al* (2009) se o diâmetro do halo de inibição é igual ou maior que 8 mm a planta pode ser considerada com boa atividade antimicrobiana. Com relação a *Pseudomonas aeruginosa*, não foi possível efetuar a análise do

antibiograma com a segunda amostra visto que não houve crescimento microbiano e em virtude das condições referentes à pandemia de COVID-19 não houve viabilidade para repetir o procedimento.

A baixa atividade antimicrobiana pode ser explicada pelo tempo sob alta temperatura em que o extrato ficou exposto, visto que uma das substâncias responsáveis pelo efeito antibacteriano dessa espécie, linalol, inicia sua volatilização na temperatura de 50°C (SOARES, 2007). Desse modo, como o extrato analisado foi obtido em uma temperatura de 70°C, já não possuía essa substância o que justifica o menor efeito antimicrobiano.

Com relação aos métodos para análise da sensibilidade dos antimicrobianos, a técnica de difusão em poços apresentou maior eficiência que a técnica de disco difusão, dado que no estudo de Miranda *et.al* (2010) a graduação alcóolica foi menor e exibiu um halo de inibição de 10 mm e 14 mm.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A medicina popular é importante para a pesquisa científica, já que através do conhecimento prévio de plantas medicinais utilizadas pela população contribui para o desenvolvimento de novos fármacos através da extração de seus princípios ativos. A *Phyllanthus niruri* é uma espécie de planta medicinal comumente utilizada na medicina popular em virtude de suas propriedades farmacológicas.

Nessa pesquisa foi observada a presença de atividade antibacteriana do extrato hidroalcolico de *Phyllanthus niruri* contra *Staphylococcus aureus* através do método de antibiograma por disco difusão. A pequena atividade que o extrato exibiu pode ser explicada pelo método de extração o qual não foi eficaz para extrair todos os compostos, bem como pela perda durante a evaporação do solvente.

Ademais, com base em outros estudos, pode-se notar que a técnica de difusão em poços mostrou-se mais eficaz na análise de sensibilidade de microrganismos diante do extrato de plantas. Portanto, a quebra-pedra pode exibir uma atividade diferente com outro método de análise de sensibilidade.

Desse modo, faz-se necessário a continuidade desse estudo com a finalidade de avaliar a atividade antimicrobiana dessa espécie por meio de outros métodos de extração, com outras diluições do extrato e com a análise de sensibilidade microbiana. Dado que esta planta tem capacidade de ser empregada como um recurso terapêutico, visto que não manifesta toxicidade alta para o indivíduo e apresentou relativa atividade antimicrobiana.

#### REFERÊNCIAS

AITA, Adriana Moraes et al. **Espécies medicinais comercializadas como "quebra-pedras" em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil**. 2009. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-695X2009000300022](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2009000300022). Acesso em: 18 maio 2020.

ANVISA (ed.). **Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão**: Norma Aprovada – Oitava Edição. 2003. Disponível em: [https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi/clsi\\_opasm2-a8.pdf](https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi/clsi_opasm2-a8.pdf). Acesso em: 22 jan. 2021.

BRASIL. OPAS/OMS. (ed.). Folha informativa - **Resistência aos antibióticos**. 2017. Disponível em: [https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5664:folha-informativa-resistencia-aos-antibioticos&Itemid=812](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5664:folha-informativa-resistencia-aos-antibioticos&Itemid=812). Acesso em: 22 jan. 2021

DOMINGUES, K. et al. **Avaliação de extratos de quebra-pedra (*Phyllanthus sp*) frente à patógenos causadores de infecções no trato urinário.** 2015. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-05722015000300427](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722015000300427). Acesso em: 28 jan. 2021.

FALCÃO, Hélon Ricardo da Cruz. **Síntese e caracterização de novo antioxidante fenólico derivado da biomassa da castanha de caju (LCC - técnico) para biodiesel por método eletroanalítico.** 2016. Disponível em: [https://repositorio.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/22043/1/HelsonRicardoDaCruzFalcao\\_TESE.pdf](https://repositorio.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/22043/1/HelsonRicardoDaCruzFalcao_TESE.pdf). Acesso em: 13 mar. 2021.

LOPES, Katia Midori Tamura; NASCIMENTO, Paulo Roberto do. **Cultura Popular e Ciência no Registro de Fitoterápicos.** 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.22280/revintervol10ed2.318>. Acesso em: 13 maio 2020

MAIA, Flávia Camila. **Efeito do extrato hidroalcoólico de *Phyllanthus niruri* L. (quebra pedra) sobre células planctônicas e em biofilme de *Candida albicans*.** 2020. Disponível em: [http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/352520/1/Maia\\_FlaviaCamila\\_M.pdf](http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/352520/1/Maia_FlaviaCamila_M.pdf). Acesso em: 22 jan. 2021.

MIRANDA, Gilson da Silva et al. **Avaliação da atividade antibacterianas das plantas *Gossypium hirsutum* L. (ALGODÃO) e *Phyllanthus niruri* L (QUEBRA-PEDRA) frente a *Staphylococcus aureus*.** 2010. Disponível em <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/Hs8G93vSHT665sQHtDyjKsz/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 14 mar. 2021.

NASCIMENTO, Gislene G. F. et al. **Atividade antibacteriana de extratos de planta e fitoquímicos sobre bactérias resistentes a antibióticos.** 2000. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1517-83822000000400003](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822000000400003). Acesso em: 21 maio 2020.

OLIVEIRA, Victor Alves de et al. **Aspectos atuais sobre a utilização da *Phyllanthus niruri*(quebra-pedra) no tratamento da litíase renal.** 2019. Disponível em: <https://acervomais.com.br/index.php/saude/article/view/1386/790>. Acesso em: 9 out. 2020.

SILVA, Tássia Campos de Lima et al. **Atividade antimicrobiana de três espécies de *Phyllanthus* (quebra-pedra) e de seu produto comercial.** 2010. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1032887>. Acesso em: 22 jan. 2021.

SOARES, Rilvaynia Dantas et al. **Influência da temperatura e velocidade do ar na secagem de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) com relação aos teores de óleos essenciais e de linalol.** 2007. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-70542007000400025](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542007000400025). Acesso em: 13 mar. 2021.

SOUSA, Adriana Dutra. **Efeito do método de extração e da secagem sobre o conteúdo fenólico e a composição química de quebra-pedra: (*Phyllanthus amarus* e**

*Phyllanthus niruri*). 2017. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/23231>.  
Acesso em: 27 mar.2020.