



AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA SOBRE PATÓGENOS BUCAIS E HEMOLÍTICA DAS FOLHAS DE *Pereskia aculeata*

*Ariane Giachini dos Santos*¹; *Camila de Souza Tiburcio*²; *Claudenice Francisca Providelo Sartor*³; *Lúcia Elaine Ranieri Cortez*⁴

RESUMO: *Pereskia aculeata*, conhecida popularmente como ora-pro-nobis, é uma trepadeira arbustiva, considerada detentora do maior número de caracteres primitivos da família *Cactaceae*. As folhas da planta são usadas popularmente como emoliente, consumidas como fonte alimentar, sem relatos de toxicidade; os frutos como expectorante e antissifilíticos. Na medicina popular a grande vantagem da planta é no abrandamento dos processos inflamatórios e na recuperação da pele em casos de queimadura. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana sobre patógenos bucais e hemolítica do extrato bruto das folhas de *Pereskia aculeata*. A metodologia empregada fundamentou-se no preparo do extrato bruto por maceração em álcool 92,8% a partir das folhas de *Pereskia aculeata*. Após a liofilização do extrato bruto o estudo da atividade antimicrobiana foi realizada frente as bactérias cariogênicas *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei*, e do fungo *Cândida albicans*, utilizando o método de difusão em ágar. A avaliação da atividade hemolítica foi realizado em tubos de ensaios, pela determinação do índice de hemólise. Através desse estudo pode-se observar que o extrato bruto de *Pereskia aculeata* não apresentou atividade antimicrobiana satisfatória. Com relação a atividade hemolítica foi observado precipitação das hemácias nos tubos, indicando que não houve atividade hemolítica, portanto, o resultado indica que *Pereskia aculeata* não possui características tóxicas, sugerindo-se que a planta pode ser utilizada em larga escala na área medicinal, não apresentando riscos para a saúde da população, uma vez que a mesma é utilizada como suplemento alimentar, sendo desta forma um resultado satisfatório.

PALAVRAS-CHAVE: Ação farmacológica; *Cactaceae*; Plantas Medicinais

1 INTRODUÇÃO

O uso e o comércio de plantas vêm sendo estimulados, nas últimas décadas, pela necessidade de uma crescente população que busca uma maior diversidade e quantidade de plantas para serem utilizadas no cuidado da saúde e também aplicadas em tradições religiosas. No Brasil há crescente interesse pela medicina tradicional que ocorre devido à vigente carência de recursos dos órgãos públicos de saúde e incessantes aumentos de

¹Discente do Curso de Farmácia do Centro Universitário de Maringá - CESUMAR, Maringá-Paraná. Programa de Bolsas de Iniciação Científica do Cesumar (PROBIC). ariane_ags@hotmail.com;

²Discente do Curso de Farmácia do Centro Universitário de Maringá -CESUMAR, Maringá – PR. camila_st@pop.com.br

³ Orientadora da Pesquisa e Docente Doutora da Disciplina de Química Aplicada às Ciências Farmacêuticas do Curso de Farmácia do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, claudenice@cesumar.br

⁴ Co-orientadora da Pesquisa e Docente Doutora da Disciplina de Farmacognosia do Curso de Farmácia do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, Maringá – PR; lucielaine@cesumar.br

preços nos medicamentos alopáticos, bem como dos efeitos colaterais apresentados por alguns destes medicamentos (MAIOLI-AZEVEDO; FONSECA-KRUEL, 2007).

Dentre as inúmeras plantas, com finalidades terapêuticas, estão as do gênero *Pereskia*, que tem demonstrado um potencial promissor, especialmente no que tange ao tratamento de certos tipos de cânceres e doenças cardio-vasculares. Por serem plantas de alto teor nutricional, também têm sido utilizadas como fontes suplementares de alimentação para seres humanos e animais. Os estudos preliminares, apesar de pequeno número ainda, demonstram grandes possibilidades destas plantas virem a ser aproveitadas futuramente como agentes medicinais (TAN et al., 2004).

Pereskia aculeata, conhecida popularmente como ora-pro-nobis, é uma trepadeira arbustiva, considerada detentora do maior número de caracteres primitivos da família *Cactaceae*. A mesma tem grande importância ornamental, alimentícia e popularmente medicinal. Na medicina a grande vantagem da planta é no abrandamento dos processos inflamatórios e na recuperação da pele em casos de queimadura. As folhas de *Pereskias* são usadas popularmente como emoliente, consumidas como fonte alimentar, sem relatos de toxicidade; os frutos como expectorante e antissifilíticos (ROSA; SOUZA, 2003; DUARTE; HAYASHI, 2005; GRONNER; SILVA; MALUF, 1999).

Nos últimos anos, a resistência de microrganismos patogênicos a múltiplas drogas tem aumentado devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos, utilizados no tratamento de doenças infecciosas. Essa situação vem despertando o interesse dos cientistas na busca de novas drogas. As plantas constituem em uma excelente fonte de substâncias para novas drogas antimicrobianas, tendo em vista que a diversidade molecular dos produtos naturais é muito superior àquela derivada dos processos de síntese química (SILVA et al., 2010).

Todavia, para o teste hemolítico, na investigação da ação de extratos vegetais em sangue humano, além da função das plaquetas, é importante a determinação da atividade hemolítica. Sendo este um indicador de citotoxicidade e bioatividade. Em testes *in vitro* para a ação hemolítica, tem sido utilizada como um dos métodos de triagem para os diferentes agentes tóxicos (OLIVEIRA et al., 2009).

Baseado neste contexto o presente trabalho teve como objetivo avaliar as atividades antimicrobiana sobre patógenos bucais e hemolítica das folhas de *Pereskia aculeata*. Desta forma, para que sejam abertas novas possibilidades de estudos envolvendo essa planta, visto que suas propriedades são ainda pouco estudadas, sendo os conhecimentos obtidos por meio deste de suma importância para futuras aplicações em humanos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras do vegetal foram coletadas no Horto do Centro Universitário de Maringá (CESUMAR). O extrato foi elaborado, a partir de folhas secas trituradas, por maceração sucessiva a frio com etanol 92,8%, concentrado à pressão reduzida e liofilizado.

Os microrganismos utilizados foram: *Enterococcus faecalis* (ATCC 4082), *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Lactobacillus casei* (ATCC 11578) e *Candida albicans* (ATCC 18804 e 448858). O extrato bruto das folhas de *Pereskia aculeata* foi submetido a ensaios de atividade antimicrobiana sobre bactérias cariogênicas utilizando o método de difusão em ágar, em que as bactérias foram inoculadas em tubos de ensaios contendo meio ágar Nutriente inclinado. Os tubos foram incubados em estufa a 37°C, por 24 horas. Após o crescimento das respectivas bactérias, foi feita a padronização do inóculo para 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). Após, as bactérias foram semeadas em placas de petri contendo meios ágar MacConkey, ágar sangue, ágar MRS. Foram colocados em discos de papel filtro com 5mm de diâmetro e aplicados 0,25 e 0,5 g/mL de extrato bruto das folhas de *Pereskia aculeata* e 10 µL de solução Digluconato de

clorexidina a 1 % como controle antimicrobiano. As placas contendo as bactérias cariogênicas como microrganismos detectores foram incubadas por 24 horas a 37°C para a leitura dos resultados. A atividade biológica foi avaliada pela medição do diâmetro da zona de inibição de crescimento. Todos os ensaios foram realizados em triplicata e obtidos uma média dos resultados.

O teste de atividade antifúngica foi realizado pelo método de diluição em ágar sobre a levedura *Candida albicans* ATCC 18804 e 448858. A mesma foi padronizada a partir da cultura de 48 horas em caldo Sabouraud. Em um tubo contendo solução salina estéril, foi adicionado gota a gota a suspensão de levedura até obtenção de uma turvação, padronizada de acordo com o tubo 0,5 da escala de McFarland (10^6 UFC/mL). Após, foi realizado a semeadura do fungo em placa contendo ágar sabouraud. Foi colocado em discos de papel de filtro com 5mm de diâmetro e aplicados 0,25 e 0,5 g/mL de extrato bruto das folhas de *Pereskia aculeata* e 10 µL de solução Digluconato de clorexidina a 1% como controle.

Na atividade hemolítica (AH) primeiramente foi preparado o extrato em solução fisiológica (SF) NaCl 0,9%, pesado 0,15g de extrato e misturado com 100 mL de solução fisiológica. Aquecido em banho-maria durante 30 minutos à 50°C. Após o aquecimento filtrou-se o líquido para um balão volumétrico de 100 mL e completado o volume. Foram feitas diluições sucessivas em tubos de ensaio utilizando sempre NaCl 0,9% como solvente, e, para a realização do teste hemolítico foi coletado 1 mL de sangue humano de um indivíduo adulto saudável. Posteriormente, em um balão volumétrico de 50 mL foi preparado uma suspensão de sangue: 1,0 mL de sangue com anticoagulante e completado o volume com solução fisiológica. Esta suspensão foi preparada no dia da realização do procedimento. No teste dos índices de hemólise foram numerados 10 tubos de ensaio e adicionados 2,0 mL da solução fisiológica, exceto no Tubo 1. Adicionou-se 2,0 mL da solução contendo o extrato da planta no Tubo 1 e no Tudo 2. Homogeneizou-se a solução do Tubo 2 e foi transferido 2,0 mL do Tubo 2 para o Tubo 3, homogeneizou-se novamente e continuou o mesmo processo até o último tudo. No Tubo 10 foi desprezado 2,0 mL. Em seguida, foi adicionado nos tubos 2,0 mL da suspensão de sangue em solução fisiológica e homogeneizou-se. Deixou-se em repouso por 1 (uma) hora e observou-se.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No que diz respeito à atividade antimicrobiana de *Pereskia aculeata*, no presente estudo não foram encontrados resultados positivos, ou seja, a planta não apresentou efeito inibitório no crescimento das bactérias e levedura testada, pois não houve o aparecimento do halo de inibição, mostrando desta forma que as bactérias e o fungo são resistentes ao extrato da planta. O padrão utilizado como controle foi o antibiótico clorexidina na concentração de 1%, mostrando sobre a bactéria *Lactobacillus casei* um halo de inibição de 2,5 cm, sobre a bactéria *Enterococcus fecalis* um halo de inibição de 1,3 cm, frente a bactéria *Streptococcus mutans* um halo de inibição de 1,0 cm e sobre o fungo *Cândida albicans* um halo de inibição de 1,0 cm. Os ensaios foram realizados em triplicata e o resultado final foi determinado pela média aritmética dos diâmetros dos halos de inibição.

A resistência bacteriana aos antimicrobianos é considerada como um problema inerente à terapia antimicrobiana, por este motivo é preciso sempre buscar novas fontes terapêuticas. Testar produtos naturais pode ser uma medida alternativa importante para ajudar a resolver esse problema de resistência (SILVA et al., 2010).

Desta forma, a procura pela descoberta de agentes antimicrobianos, oriundos de plantas pode levar ao desenvolvimento de novos fármacos clinicamente importantes na odontologia (ANDREWS, 2001).

Em relação à atividade hemolítica foi observado precipitação do líquido nos tubos de ensaio, contendo o extrato bruto da planta, o qual foi diluído em solução fisiológica e sangue humano. Este resultado indica que a planta *Pereskia aculeata* não tem atividade hemolítica, ou seja, como houve a formação de um precipitado, não houve lise das hemácias, pois as mesmas ficaram íntegras no fundo dos tubos, mostrando assim sua incapacidade lítica.

4 CONCLUSÃO

O extrato bruto das folhas de *Pereskia aculeata*, não apresentou atividade sobre nenhuma das bactérias e levedura utilizadas, mostrando dessa forma que os microrganismos *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus faecalis* e *Cândida albicans* são resistentes à planta. Sendo necessário o desenvolvimento de mais pesquisas para comprovação deste resultado e aplicabilidade clínica, uma vez que *Pereskia aculeata* ainda é uma planta pouco estudada cientificamente.

A ausência da atividade hemolítica em eritrócitos humanos do extrato bruto das folhas de *Pereskia aculeata*, sugere que nas concentrações analisadas da planta é atóxica, ou seja, não tem capacidade da lise das hemácias.

REFERÊNCIAS

ANDREWS, J.M. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy** 48, Suppl. S1, 5-16, 2001.

DUARTE, M.R.; HAYASHI S.S. Estudo anatômico de folha e caule de *Pereskia aculeata* Mill.(Cactaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n.2, p.103-109, Abr./Jun., 2005.

GRONNER, A.; SILVA, V. D.; MALUF, W. R. Ora-Pro-Nobis (*Pereskia aculeata*)- a carne de pobre. **Boletim Técnico de Hortaliças**. 1. Ed., n. 37, 1999.

MAIOLI-AZEVEDO, V.; FONSECA-KRUEL, V. S. Plantas medicinais e ritualísticas vendidas em feiras livres no Município do Rio de Janeiro, RJ, Brasil: estudo de caso nas zonas Norte e Sul. **Acta bot. bras.**, v. 21, n. 2, p. 263-275, 2007

OLIVEIRA, V. M. A. et al; *In vitro* screening of Amazonian plants for hemolytic activity and inhibition of platelet aggregation in human blood. **Acta Amaz.** Vol.39, n.4, pp. 973-980, 2009.

ROSA, S. M.; SOUZA, L. A. Morfo-anatomia do fruto (hipanto, pericarpo e semente) em desenvolvimento de *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**. v. 25, n. 2, p. 415-428, 2003.

SILVA, V.A. et al. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana do extrato da *Lippia sidoides* Cham. sobre isolados biológicos de *Staphylococcus aureus*. **Rev. bras. plantas med.** 2010, vol.12, n.4, pp. 452-455.

TAN, M. L. et al. Methanolic extract of *Pereskia bleo* (Kunth) DC. (Cactaceae) induces apoptosis in breast carcinoma, T47-D cell line. **School of Biological Sciences**, Universiti Sains Malaysia, 2004.