



Potencial antibacteriano do hidrolato de *Lippia grata* em cepas planctônicas de *Salmonella entérica*

Laura Lívia Bezerra de Medeiros^{1*}, Cynthia Cavalcanti de Albuquerque¹, Caroline Raquel de Souza Silva¹, Leandro de Paula Bezerra¹, Vitória Michele¹, Ellen Beatriz Fontes da Fonseca¹

RESUMO: *Lippia grata*, popularmente conhecida como "alecrim do mato" ou "alecrim do campo", é uma planta nativa da região da Caatinga. Pertence à família Verbenaceae, a *L. grata* é uma espécie arbustiva perene. Uma das características mais marcantes da *L. grata* é o seu aroma agradável, semelhante ao alecrim comum, que é atribuído aos óleos essenciais presentes em suas folhas. Pesquisas têm demonstrado que o hidrolato, ou seja, a água floral resultante da destilação das folhas de *L. grata* para obtenção de óleos essenciais, possui atividade antibacteriana e pode apresentar um papel importante no combate a algumas bactérias patogênicas. O objetivo deste trabalho é analisar a capacidade antibacteriana do hidrolato de *Lippia grata* sobre a bactéria *Salmonella enterica*. O hidrolato foi obtido a partir das folhas de *L. grata* através do aparelho clevenger adaptado. Para aplicação do microrganismo, foi utilizado o método de microdiluição seriada para determinação de Concentração Inibitória Mínima (CIM), em placas de 96 poços, com meio Mueller Hinton. As bactérias foram submetidas à 12 concentrações do hidrolato de *L. grata* diluídos seriadamente nas concentrações de 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,5625%; 0,78125%; 0,39063%; 0,19531%; 0,09766%; 0,04883%, e 12 concentrações do antibiótico comercial (controle positivo - amoxicilina) com as mesmas diluições do hidrolato, e um controle negativo, totalizando 25 tratamentos. O hidrolato de *L. grata* apresenta efeito bacteriostático em cepas planctônicas de *S. enterica* in vitro, com eficiência em 10 das 12 concentrações testadas, inibindo até 17,39% na concentração de 25%.

Palavras-chave: Antimicrobiano, Água aromatizada, Caatinga.

Antibacterial characterization of *Lippia grata* hydrolate on enteric *Salmonella* bacteria

ABSTRACT: *Lippia grata*, popularly known as "alecrim do mato" or "alecrim do campo", is a plant native to the Caatinga region. Belonging to the Verbenaceae family, *L. grata* is a perennial shrub species. One of the most striking characteristics of *L. grata* is its pleasant aroma, similar to common rosemary, which is attributed to the essential oils present in its leaves. *L. grata* for obtaining essential oils, has antibacterial activity and may play an important role in combating some pathogenic bacteria. The objective of this work is to analyze the antibacterial capacity of *Lippia grata* hydrolate on *Salmonella enterica* bacteria. The hydrolate was obtained from the leaves of *L. grata* through the adapted clevenger apparatus. For application of the microorganism, the serial microdilution method was used to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), in 96-well plates, with Mueller Hinton medium. The bacteria were submitted to 12 concentrations of *L. grata* hydrolate serially diluted in concentrations of 100%; 50%; 25%; 12.5%; 6.25%; 3.125%; 1.5625%; 0.78125%; 0.39063%; 0.19531%; 0.09766%; 0.04883%, and 12 concentrations of the commercial antibiotic (positive control - amoxicillin) with the same hydrolate dilutions, and a negative control, totaling 25 treatments. *L. grata* hydrolate has a bacteriostatic effect on planktonic strains of *S. enterica* in vitro, with efficiency in 10 of the 12 concentrations tested, inhibiting up to 17.39% at a concentration of 25%.

Keywords: Antimicrobial, Flavored water, Caatinga.

INTRODUÇÃO

Os produtos florestais não madeireiros (PFNM) correspondem aos produtos de caráter vegetal ou animal que são extraídos de áreas florestais por meio da coleta visando, assim, um posterior uso. A utilização dos PFNM recorda desde civilizações antigas, que por meio dessa atividade garantiram sua fonte de alimento, obtenção de medicamentos e

cosméticos, até mesmo aos tempos atuais, nos quais as várias mudanças ambientais e econômicas produziram grande interesse por parte de governantes e cientistas para estes produtos (BRITO *et al.*, 2003)

O Brasil é rico em diversidade, o que corresponde a cerca de 20% da biodiversidade mundial, sendo resultado da adaptação às diferentes variabilidades

climáticas no país. Um dos gêneros representativos no país é o gênero *Lippia*, presente em abundância na Caatinga. Sua ampla ocorrência é consequência das condições naturais favoráveis para o seu desenvolvimento, correspondendo a 82 espécies, com 61 destas endêmicas (PEIXOTO, 2019).

A *Lippia grata* ganha notoriedade no grupo por seu poder antimicrobiano muito conhecido e potencial farmacológico, Simões *et al.* (2003). Esse potencial também pode estar presente no hidrolato, oriundo da obtenção do óleo essencial como rejeito.

O hidrolato é um termo utilizado para fazer referência a um grupo de produtos que contêm diversas propriedades terapêuticas e substâncias aromáticas. São suspensões coloidais de óleos essenciais, solúveis em água e obtidas por meio de destilação a vapor e hidrodestilação de plantas e ervas. Os óleos essenciais vêm sendo utilizados para diversos fins medicinais e terapêuticos, no entanto, o hidrolato é descartado. Partindo da possibilidade de utilizá-los como produto alternativo, com propriedades semelhantes, mas em menor concentração e que pode apresentar potencial para aplicação na saúde humana e animal, alguns novos estudos vêm sendo iniciados.

A atividade do hidrolato de *L. grata* com potencial atividade antibacteriana e antisséptica já é relatado na literatura, Peixoto (2019); Almeida *et al.* (2016). O potencial uso deste produto como antimicrobiano e antisséptico em saúde e produção animal, já foi confirmado *in vitro* em bactérias isoladas de leite e outros alimentos de origem animal Costa *et al.* (2011). Mas sobre a ação antibacteriana e/ou bacteriostático ainda é pouco conhecida.

A bactéria *Salmonella enterica* é um patógeno zoonótico, considerado um dos principais causadores de morte em animais e humanos. Quando a bactéria é ingerida, alcança o intestino causando gastroenterite neutrofílica ou expandido para sítios sistêmicos, com sintomas que se estendem de diarreia intensa até sangue nas fezes. Esse patógeno causa grande preocupação aos profissionais da saúde, assim como à população (JENNINGS *et al.*, 2017).

Diante disso, esse trabalho tem como objetivo identificar a atividade antibacteriana hidrolato de *Lippia grata* sobre *Salmonella entérica*.

MATERIAIS E MÉTODOS

O hidrolato foi obtido a partir das folhas de *L. grata* coletadas na Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN). Após a coleta, as folhas foram levadas para o Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Plantas (LFBP) na UERN e acondicionadas em freezer a -15°C até o momento da extração.

Para obtenção do hidrolato foi utilizado o aparelho de Clevenger adaptado com 500g de material vegetal

e 2 litros de água destilada por 2h de extração, separando o óleo do hidrolato.

Para o ensaio antimicrobiano, para avaliar o crescimento da *S. enterica* na presença do hidrolato de *L. grata*, foi utilizado o método de microdiluição seriada para determinação de Concentração Inibitória Mínima (CIM), na metodologia proposta por Bona *et al.* (2014).

A *S. enterica* foi inoculada em placas de 96 poços, contendo meio Mueller Hinton submetidas a 12 concentrações do hidrolato de *L. grata* diluídos seriadamente nas concentrações de (C1- 100%; C2-: 50%; C3- 25%; C4- 12.5%; C5- 6,25%; C6- 3,12%; C7:- 1,56%; C8- 0,78%; C9- 0,39%; C10- 0,19; C11- 0,097%; C12- 0,048%) e um controle negativo.

Após a inoculação dos fungos, as placas foram levadas a uma estufa B.O.D a 37°C no intuito de não ressecar os poços por 48h. As análises de absorvância foram avaliadas em espectrofotômetro a 600 nm.

O grau de inibição foi mensurado a partir da comparação entre o controle positivo e os tratamentos com o hidrolato (Equação 1). Para calcular o potencial de inibição foi utilizado a seguinte equação:

$$x = \frac{\sum x}{n} \quad (\text{Equação 1})$$

Em que, $\sum x$ é a soma das absorvâncias (nm) e n é o número de repetições por tratamento.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

De acordo com as análises referentes ao hidrolato de *L. grata* foi observado a capacidade antibacteriana do hidrolato contra cepas de *S. enterica*, sendo observado em várias concentrações resultados positivos (Figura 1).

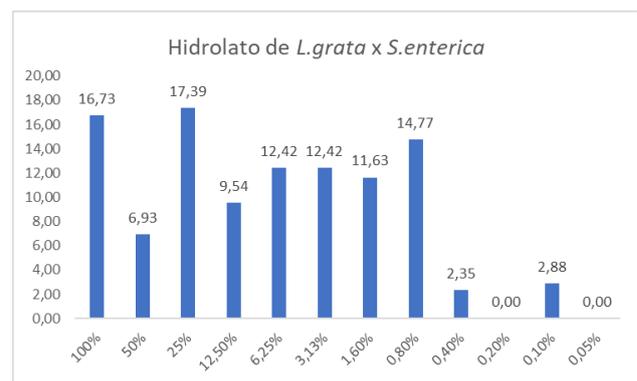


Figura 1 - Porcentagem de inibição de cepas planctônicas de *S. enterica* sob diferentes concentrações de hidrolato de *L. grata*.

Alguns estudos demonstram eficácia de diferentes óleos essenciais extraídos de algumas espécies de *Lippia* frente à patógenos. Há relato de 3 potenciais biológicos dos óleos essenciais contra o gênero *Streptococcus* e o fungo *Candida albicans*, o que confirma mais uma vez que tais compostos possam ajudar a desenvolver alternativas contra fungos,

bactérias e vírus (BERTINI *et al.*, 2005; BOTELHO *et al.*, 2007).

O hidrolato de *L. grata* apresentou ação antibacteriana em 10 das 12 concentrações testadas (Figura 1). Dentre as concentrações, o melhor desempenho foi observado quando havia níveis mais elevados de hidrolato (100%, 25%, 6,25%, 3,12% e 0,7%), indicando que quanto maior a concentração do hidrolato utilizado, maior foi o efeito inibitório observado.

O resultado pode sugerir uma relação de dose-resposta, onde quanto maior a quantidade do hidrolato aplicado, maior é a sua capacidade de inibir o crescimento das cepas de *S. entérica*.

Apesar de poucos trabalhos levarem em consideração a característica antibacteriana do hidrolato, alguns estudos mostram a eficácia desses compostos sob ação de fungos, bactérias e vírus (RIOS e RECIO, 2005), sendo os resultados aqui obtidos encorajadores em relação às concentrações de 100% e 25%. A concentração de 100% pode ser considerada a forma pura do hidrolato, enquanto a de 25% é uma diluição menos concentrada e ainda assim eficaz.

Os resultados também indicam que existe e uma faixa ideal de concentrações nas quais o composto é mais efetivo e, acima ou abaixo dessa faixa, seu efeito pode ser reduzido.

Diversos estudos mostram o quão eficiente mostra-se a atividade de óleos essenciais de plantas sobre os diversos patógenos, podendo ser uma alternativa eficaz, se melhor desenvolvida, aos antibióticos, Francener (2001), podendo o subproduto desses óleos essenciais, como o hidrolato, também ser uma opção contra patógenos.

CONCLUSÕES

Os resultados sugerem que o hidrolato de *L. grata* tem potencial como um agente inibidor contra cepas de *S. enterica*, especialmente em concentrações mais elevadas, podendo ser uma alternativa interessante para o controle desta bactéria. Sendo mais eficiente na concentração de 25%.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. C; MORÃO R. P; MARTINS E. R; FONSECA F. S; SOUZA C. N; PRATES J. P. B; OLIVEIRA F. D; SILVA L. M. V. Atividade antisséptica do óleo essencial de *Lippia organoides* Cham.(Alecrim-pimenta) na presença de leite bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, p. 905-911, 2016.

BARROS, A. V. D; OLIVEIRA C. B.S; MELO B. K. C; COSTA T. N. B. G; CAMPOS D. M. O; OLIVEIRA J. I N. Riquezas da caatinga e seu potencial farmacológico: uma revisão sistemática. **South American Journal, Rio**

Branco, UFAC v.8 n.1(2021):Edição jan/abr.ISSN: 2446-4821AS.

BRITO, J. O. Produtos florestais não-madeireiros: um importante potencial nas florestas. **Boletim Informativo Aresb**, n. 47, p. 4, 2003.

COSTA, J. P. R; ALMEIDA A. C; MARTINS E. R; RODRIGUES M. N; SANTOS C. A; MENEZES I. R.. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim-pimenta e do extrato bruto seco do barbatimão diante de bactérias isoladas do leite. **Biotemas**, v. 24, n. 4, 2011.

JENNINGS, E; THURSTON, THURSTON T. L. M; HOLDEN, D.W. Salmonella Efetores do sistema de secreção de SPI-2 tipo III: mecanismos moleculares e consequências fisiológicas. **Cell Host & Microbe** , v. 22, n. 2, pág. 217-231, 2017.

PEIXOTO, J. S . A. Caracterização fitoquímica de extrato e óleo essencial da *Lippia alba* com potencial atividade antimicrobiana. 2019. Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande.

SCHWAN-ESTRADA K. R. F; STANGARLIN, J. R.; Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. **Cavalcanti, LS; Di Piero, RM; Cia, P.; Pascholati, SF**, p. 125-138, 2005.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora UFSC, 2003

FRANZENER, G. Atividade antifúngica, produção de fitoalexinas em sorgo e soja e indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana* a partir da planta medicinal *Artemisia camphorata* (cânfora). 2001. Monografia (Graduação em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.

RÍOS, J. L.; RECIO, M. C. Medicinal plants and antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology** Kidington, v.100, p.80-84, 2005.

BERTINI, L. M; PEREIRA A. F; OLIVEIRA C. L. L; MENEZES E. A; MORAIS S. M; CAVALCANTI E. S. B. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do Nordeste do Brasil. **Infarma**, v. 17, n. 3/4, p. 80-83, 2005.

BOTELHO, M. A; NOGUEIRA N. A.P; BASTOS S. G.C; LEMOS T. L. G; MATOS F. J. A; MONTENEGRO D.; HEUKELBACH J.; RAO V. S; BRITO G. A. C. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Brazilian Journal of Medicinal and Biological Research**, v. 40, n. 3, p. 349-356, 2007.