

**ESTUDO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DO EXTRATO DA GOIABEIRA
(*Psidium guajava* LINN) SOBRE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
MULTIRRESISTENTES**

Rodrigo Rafael Maia

PIBIC, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB

Maria do Socorro Vieira Pereira

Prof. Associado do Departamento de Biologia Molecular, Centro de Ciências Exatas e da Natureza Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB

Ana Carolina Lyra de Albuquerque

Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB Rua Santa Cavalcante, 169, praia do poço, Cabedelo, 58310000, tel: 91120589, email: lina.lyra@gmail.com

Luciana Filgueira Pereira

Pós- Graduação em Biologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE

Maria Regina Macedo-Costa

Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, RN.

RESUMO - A versatilidade do *Staphylococcus aureus* no desenvolvimento de resistência a vários agentes antimicrobianos contribui para a sua sobrevivência em ambientes hospitalares e difusão entre os pacientes. A cefalosporina e norfloxacina representam um grupo de agentes antimicrobianos ativos contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, e são freqüentemente utilizadas na prática clínica no combate a infecções por *Staphylococcus aureus*. O objetivo do presente trabalho foi determinar a concentração inibitória mínima da cefalexina e norfloxacina isolada e em associação com os extratos hidroalcoolicos de *Psidium guajava* Linn (goiabeira) sobre isolados clínicos de *Staphylococcus aureus*. Foram utilizadas no presente trabalho cepas de *Staphylococcus aureus* de origem humana hospitalar caracterizadas fenotipicamente como sensíveis e resistentes a metilicina. A concentração inibitória mínima (CIM) da cefalexina isolada e em associação, foi determinada pelo método da diluição em placas e difusão. A associação Cefalexina - alcoolatura de goiabeira, produziu um efeito sinérgico em todas as amostras; como também a associação norfloxacina - alcoolatura de goiabeira. Os resultados obtidos da associação dos antimicrobianos com cefalexina mais *Psidium guajava* sobre as amostras bovinas variaram de 1:4 a 1:256 µg/ml. Os resultados deste estudo mostram a importância de se avaliar meios alternativos no combate a infecções e ao desenvolvimento de resistência a drogas em *Staphylococcus aureus*, particularmente em linhagens multirresistentes, contribuindo para uma melhor compreensão sobre os aspectos genéticos da resistência aos antimicrobianos.

PALAVRAS-CHAVE: Efeito antimicrobiano; *Psidium guajava*; Linn *Staphylococcus aureus*.

**ANTIMICROBIAL EFFECT OF THE *Psidium guajava* LINN EXTRACT ON
MULTIDRUG-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

ABSTRACT - The versatility of the *Staphylococcus aureus* in the development of resistance to some antimicrobials agents contributes for its survival in hospital environments and diffusion between the patients. The cefalosporin and norfloxacin represent a group of agent active antimicrobials against Gram-positive and Gram-negative bacteria, and frequently are used in the practical clinic in the combat for *Staphylococcus aureus*. The objective was to determine the minimum inhibitory concentration of the cefalexin and norfloxacin isolate and in association with extracts of *Psidium guajava* Linn (goiabeira) on *Staphylococcus aureus*. They had been used in the present work of *Staphylococcus aureus* of hospital human origin, sensible and fenotypic resistant the metilicin. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the isolated cefalexina and in association, was determined by the method of the dilution in plates and diffusion. The Cefalexin association *Psidium guajava* extract, produced a synergic effect in all the samples; as well as the norfloxacin association *Psidium guajava* extract. The gotten results of the association of antimicrobials with cefalexin more *Psidium guajava* on the the bovine samples had varied of 1:4 until 1:256µg/ml. The results of this study show the importance of if evaluating alternative ways

in the combat the infections and to the development of resistance the *Staphylococcus aureus* drugs i, particularly in multiresistant ancestries, contributing for one better understanding on the genetic aspects of the resistance to antimicrobials.

KEY-WORDS: Antimicrobial effect; *Psidium guajava* Linn; *Staphylococcus aureus*.

INTRODUÇÃO

Os membros do gênero *Staphylococcus* têm sido isolados de uma grande variedade de fontes que incluem o solo, a água, a areia da praia, o ar, alimentos, entre outros, no entanto essas fontes são questionáveis como habitat primário, visto que essas linhagens poderiam ser disseminadas por portadores animais (KLOOS; SHLEIFER, 1981).

Linhagens de *S. aureus* têm sido isoladas de diversas espécies de animais sadios, fato este que é de grande importância no campo da saúde pública e no da saúde animal (PEREIRA, 2000). No Brasil, linhagens de *S. aureus* foram isoladas de bovinos em fase de lactação, na pele do úbere e tetas e menos frequentemente nas fossas nasais (PEREIRA; SIQUEIRA-JÚNIOR, 1995).

Particularmente, em *S. aureus* a sua versatilidade no desenvolvimento de resistência a vários agentes antimicrobianos contribui para a sobrevivência em ambientes hospitalares e difusão entre os pacientes, como é o caso do *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA), que usualmente é resistente não somente as penicilinas e cefalosporinas, mas também aminoglicosídeos, lincomicinas, tetraciclina, rifampicina e mais recentemente a vancomicina (VAN WAMEL et al., 1995; GILLESPIE, et al, 1997).

As infecções causadas por linhagens de *S. aureus* sensíveis à meticilina têm aumentado significativamente nos últimos 20 anos, sendo uma das maiores causas de infecção hospitalar, Beretta et al (2004).

A utilização da associação de antimicrobianos continua a ser avaliada pela capacidade de suprimir o aparecimento de mutantes resistentes, e produzir um efeito sinérgico *in vivo*. Uma tentativa de manter o uso de antimicrobianos atuais poderia ser encontrada em sua combinação com outros produtos, como os produtos naturais, que representariam uma opção terapêutica no tratamento de infecções causadas por *S. aureus* e outros patógenos, no que diz respeito ao aparecimento crescente de resistência múltipla (MUSUMECI et al., 2003; PEREIRA, 2000).

A *Psidium guajava* Linn (goiabeira) se apresenta na natureza como uma planta em forma de arbusto perene da família das Mirtáceas, com caule tortuoso e esgalhado medindo cerca de 7 metros, apresenta fruto globoso ou periforme, amarelado, de 3 a 6 cm de diâmetro. É uma árvore frutífera originária das Américas Central e do sul, cultivada em todos os países de clima tropical (Matos, 1997).

Para superar o surgimento de resistência por parte das bactérias, estudos têm sido reportados com a combinação de extratos vegetais com antibióticos, como as fluoroquinolonas, contra bactérias de importância clínica. (MACHADO et al., 2003).

MATERIAL E MÉTODOS

A matéria prima (folhas) da *Psidium guajava* Linn (goiabeira) foi obtida e identificadas botanicamente no Laboratório de Toxicologia da Universidade Federal de Pernambuco. As folhas foram colocadas para secar em estufa a 33°C.

Foram utilizadas neste trabalho, amostras de *Staphylococcus aureus* de origem animal, isoladas de bovinos em fase de lactação, na região de Patos – PB (Pereira, Siqueira, 1995) e amostras de *S. aureus* de origem humanas obtidas a partir de pacientes internados no hospital Universitário Lauro Wanderley/UFPB, caracterizadas fenotipicamente como sensíveis e resistentes a meticilina (FREITAS, 1993).

Avaliou-se a atividade antimicrobiana dos extratos da Goiabeira em associação com a cefalexina sobre amostras representativas de *S. aureus* de origem bovina e a atividade antimicrobiana dos extratos da Goiabeira em associação com a Norfloxaxina sobre amostras representativas de *S. aureus* de origem bovina e humana, realizando a determinação das CIMs, para isso, foi utilizada uma escala de antibióticos e da Fluoroquinolona com concentrações crescentes de cefalexina e Norfloxaxina, que variaram de 0,01565 a 512 µg da droga por mL do meio de cultivo com o extrato. As amostras de *S. aureus* foram cultivadas em caldo nutritivo (Brain Heart Infusion – DIFCO); incubadas a 37°C por 18 a 20 horas, diluídas a 10⁻² em solução salina e inoculada com uma multialça. As placas foram incubadas a 37°C por 18 – 24 horas e foi considerada como CIM a menor concentração da droga que inibiu completamente o crescimento bacteriano.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Tabela 1, observa-se, comparando a utilização da cefalexina isolada e em associação que o efeito antimicrobiano foi mais expressivo quando da associação, onde verifica-se uma ação antimicrobiana até diluições de 1:256.

Tabela 1 - Concentração inibitória mínima de Cefalexina isolada e em associação com o extrato da goiabeira sobre amostras representativas de *Staphylococcus aureus* de origem bovina.

Linhagens Bacterianas	CIM das amostras em ($\mu\text{g/mL}$)	
	Cef	Ext + Cef
<i>S. aureus</i>		
122U	1:8	1:256
316U	1:8	1:256
313FN	1:2	1:64
319U	1:2	1:4
311FN	1:8	1:256
249FN	1:8	1:64
233FN	1:4	1:128
223U	1:8	1:256
ATCC	1:2	1:256

Cef – Cefalexina.

Ext – Extrato de *Psidium guajava* Linn

Na Tabela 2, observa-se, comparando a utilização onde verifica-se uma ação antimicrobiana até diluições de da norfloxacin isolada e em associação que o efeito 1:64. antimicrobiano foi mais expressivo quando da associação,

Tabela 2 - Concentração inibitória mínima da Norfloxacin isolada e em associação com o extrato da goiabeira sobre amostras representativas de *Staphylococcus aureus* de origem bovina.

Linhagens Bacterianas	CIM das amostras em ($\mu\text{g/mL}$)	
	Norflo	Ext + Norflo.
<i>S. aureus</i>		
316U	1:2	1:64
249FN	1:2	1:64
313U	1:2	1:64
313FN	1:2	1:64
ATCC	1:2	1:32
302U	1:2	1:64
303U	1:2	1:32
322FN	1:2	1:16
311FN	1:2	1:32
312U	1:2	1:32

Norflo- Norfloxacin Ext – Extrato de *Psidium guajava* Linn

Observa-se, comparando a utilização da norfloxacin isolada e em associação que o efeito antimicrobiano foi mais expressivo quando da associação, onde verifica-se uma ação antimicrobiana até diluições de 1:64.

Na Tabela 3, observa-se, comparando a utilização da norfloxacin isolada e em associação que o efeito antimicrobiano foi mais expressivo quando da associação, onde verifica-se uma ação antimicrobiana até diluições de 1:256.

Tabela 3 – Concentração inibitória mínima da Norfloxacina isolada e em associação com o extrato da goiabeira sobre amostras representativas de *Staphylococcus aureus* de origem humana.

Linhagens Bacterianas	CIM das amostras em ($\mu\text{g/mL}$)	
	Norflo	Ext + Norflo.
<i>S. aureus</i>		
102cc	1:2	1:256
148H	1:1	1:128
05c	1:4	1:32
03H	1:2	1:256
117H	1:1	1:32
186c	1:1	1:256
149L	1:64	1:2
06c	1:4	1:32

Norflo- Norfloxacina –Ext – Diluições do extrato.

Observa-se, comparando a utilização da norfloxacina isolada e em associação que o efeito antimicrobiano foi mais expressivo quando da associação, onde verifica-se uma ação antimicrobiana até diluições de 1:256

Nas figuras 1 e 2, observa-se halos de inibição formados pela ação antimicrobiana do extrato em associação com a norfloxacina, sobre *Staphylococcus aureus* de origem humana e bovina, respectivamente.

Observa-se halos de inibição formados pela ação antimicrobiana do extrato em associação com a norfloxacina, sobre *Staphylococcus aureus* de origem humana e bovina, respectivamente.

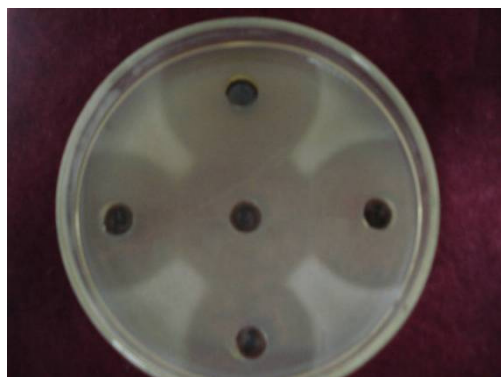


Figura 1. Atividade antimicrobiana norfloxacina em associação com o extrato da sobre *Staphylococcus aureus* de origem humana.

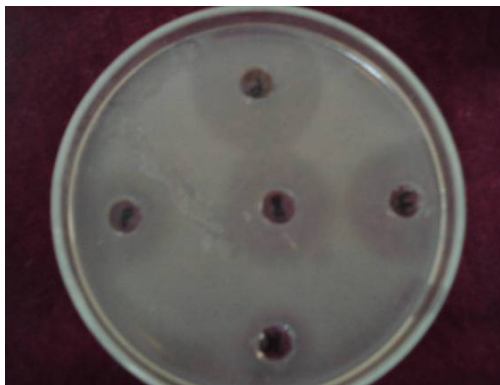


Figura 2. Atividade antimicrobiana norfloxacina em associação com o extrato da sobre *Staphylococcus aureus* de origem bovina.

O uso abusivo e indiscriminado de agentes antimicrobianos na prática clínica humana e veterinária tem um efeito seletivo no surgimento e manutenção de resistência a drogas. Particularmente, em *S. aureus* a sua versatilidade no desenvolvimento de resistência a vários agentes antimicrobianos contribui para a sobrevivência em ambientes hospitalares e difusão entre os pacientes, como é o caso do *S. aureus* resistente a metilina (MRSA).

Uma tentativa de manter o uso de antimicrobianos atuais poderia ser encontrada em sua combinação com outros produtos, como os produtos naturais, que representariam uma opção terapêutica no tratamento de infecções causadas por *S. aureus* e outros patógenos, no que diz respeito ao aparecimento crescente de resistência múltipla (MUSUMECI et al., 2003; PEREIRA, 2000).

Os resultados obtidos da associação do antimicrobiano da goiabeira com cefalexina sobre as amostras bovinas variaram de uma concentração inibitória de 1:4 a 1:256 $\mu\text{g/ml}$. A associação norfloxacina mais goiabeira sobre as amostras bovinas variaram de concentrações de 1:16 à 1:64 $\mu\text{g/ml}$ e nas amostras humanas a associação variou de 1:32 a 1:256 $\mu\text{g/ml}$,

demonstrando efeito sinérgico, *in vitro* para todas as amostras ensaiadas.

A combinação com produtos naturais frequentemente utilizados pela população e os antibióticos aqui ensaiados, poderiam representar uma opção terapêutica no tratamento de infecções causadas por *S. aureus* e outros patógenos, como também, a prevenção do desenvolvimento crescente de resistência múltipla.

CONCLUSÕES

Diante dos resultados apresentados conclui-se que:

- A cefalexina em associação com o extrato da goiabeira sobre amostras representativas de *Staphylococcus aureus* de origem bovina apresenta um efeito sinérgico.
- A norfloxacin em associação com o extrato da goiabeira sobre amostras representativas de *Staphylococcus aureus* de origem bovina e humana, apresenta um efeito sinérgico.

REFERÊNCIAS

BERETTA, A L R P, TRABASSO, R B, STUCCHI, MORETTI, L.. Use of molecular epidemiology to monitor the nosocomial dissemination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a university hospital from 1991 to 2001. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 37:1345-1351, 2004.

GILLESPIE, S. H.; MCHUGH, T. D. The biological coast of antimicrobial resistance. *Trends in Microbiology*, ano 5, v.9, p. 337-338.1997.

KLOOS, W. E.; SCHLEIFER, K. H. The genus *Staphylococcus*. Apud STARR, M. P. *et al.* The procaryotes, Berlin Helberg: Springer Verlag, cap. 125, p. 1548-1569. 1981.

MACHADO, T.B. *et al.* Antimicrobial ellagitannin of *Punica granatum* fruits. *Journal Brazilian Chemical Society* 13: 606–610. 2003.

MATOS, F. J. A. Introdução a fitoquímica experimental. Fortaleza: UFC. 1997.

MUSUMECI, R. *et al.* Berberis aetnensis C. Presl. extracts: antimicrobial properties and interaction with ciprofloxacin. *Journal Antimicrobial Agents.* 22(1):48-53. 2003.

PEREIRA, M. S. V. Atividade *in vitro* de Fluoroquinolonas e Ação sobre Plasmídeos em Amostras de *Staphylococcus aureus* Humanas e Bovinas. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE. 2000.

PEREIRA, M. S. V.; SIQUEIRA JÚNIOR, J. P. Antimicrobial drug resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from cattle in Brazil. *Letters in Applied Microbiology*, v. 20, p. 391-395. 1995.

VAN WAMEL, W. J. B. *et al.* Phenotypic characterization of epidemic versus sporadic strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical Microbiology*, ano 33, v. 7, p. 1769-1774. 1995.