

## ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DO SANATIVO<sup>®</sup> SOBRE BACTÉRIAS GRAM-POSITIVAS E GRAM-NEGATIVAS

Luanda Bárbara Ferreira Canário de Souza (1); Thereza Marinho Lopes de Oliveira (2); Maria José de Britto Costa Fernandes (3)

- (1) Universidade Federal do Rio Grande do Norte. [luanda\\_canario@hotmail.com](mailto:luanda_canario@hotmail.com)  
(2) Universidade Federal do Rio Grande do Norte. [thereza\\_marinhof@hotmail.com](mailto:thereza_marinhof@hotmail.com)  
(3) Universidade Federal do Rio Grande do Norte. [majofernandes@gmail.com](mailto:majofernandes@gmail.com)

### Introdução

Devido ao grande aumento na resistência de microrganismos patogênicos às múltiplas drogas existentes, surge a necessidade de encontrar novas alternativas terapêuticas. A pesquisa de produtos vegetais e de substâncias isoladas de plantas que possam ser utilizadas para compor novos antimicrobianos representa uma importante fonte potencial de novos medicamentos eficazes (ANTUNES *et al.*, 2006; MARASINI *et al.*, 2015).

O Sanativo<sup>®</sup> é um medicamento fitoterápico que figura como um dos mais tradicionais existentes no mercado, sendo consumido principalmente, na região do Nordeste do Brasil, desde 1888, sob a forma de um extrato fluido. O mesmo tem a sua constituição dada a partir da associação dos extratos hidroalcoólicos de quatro espécies vegetais. Em sua fórmula estão presentes 20% de angico (*Piptadenia colubrina* Benth), 20% de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi), 1,7% de camapu (*Physalis angulata*, Linné) e 1,7% de mandacaru (*Cereus peruvianus*, Miller). As ações terapêuticas desse fitoterápico são atribuídas às propriedades farmacológicas dos compostos vegetais presentes em sua formulação (AZOUBEL; RIBEIRO, 2013; LIMA *et al.*, 2006).

O angico possui propriedade adstringente, e tem sido aplicado no tratamento de anginas, diarreias, leucorréias e lesões de pele. Devido a essa característica adstringente do angico, o mesmo vem sendo utilizado no tratamento de feridas, queimaduras, inflamações de garganta e de tecidos epiteliais lesionados (LIMA *et al.*, 2006). A aroeira tem demonstrado ação em processos inflamatórios, infecções bacterianas e processos de cicatrização. O extrato hidroalcoólico da sua entrecasca tem sido utilizado no tratamento de feridas da pele, gastrites, úlceras gastroduodenais e infecções urogenitais (AMORIM; SANTOS, 2003; COLE *et al.*, 2014). O camapú apresenta atividade analgésica, sendo atribuídas ao infuso desta planta propriedades sedativas, antireumática, antimicrobiana e antiinflamatória (BASTOS *et al.*, 2006). Já o mandacaru é utilizado na assepsia necessária das regiões lesionadas, pois o mesmo possui ações deterativas. O suco dos ramos do

mandacaru em uso interno é útil no tratamento de problemas pulmonares, escorbuto e infecções de pele. Com base nas propriedades farmacológicas de cada componente vegetal do Sanativo<sup>®</sup>, o produto é recomendado no tratamento tópico de ferimentos em geral, queimaduras, contusões, inflamações de garganta, contra afecções bucais e de tecidos epiteliais lesionados (ANDRARDE; MARQUES; ZAPPI, 2006).

Portanto, o presente estudo foi conduzido para avaliação do espectro de atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato do Sanativo<sup>®</sup> sobre cepas bacterianas Gram-positivas e Gram-negativas.

### Metodologia

Nesse estudo foi analisado o extrato seco do fitoterápico Sanativo<sup>®</sup>, que é constituído de: 20% de angico (*Piptadenia colubrina* Benth), 20% de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi), 1,7% de camapu (*Physalis angulata*, Linné) e 1,7% de mandacaru (*Cereus peruvianus*, Miller). O extrato liofilizado foi cedido para a realização dos testes pelo Laboratório de Fitoterápicos do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

A partir do extrato liofilizado do Sanativo<sup>®</sup> foram preparadas dispersões aquosas para a realização dos testes microbiológicos. Essas consistiram em dispersar o extrato em água destilada estéril de forma que fossem obtidas as seguintes concentrações: 170 mg/mL, 100 mg/mL e 50 mg/mL. A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada empregando-se o método de disco difusão em ágar, baseado na técnica descrita por Bauer *et al.* (1966). Foram utilizados disco de papel com 6mm de diâmetro; cada disco foi impregnado com 10 µL das concentrações do extrato anteriormente preparadas, e mantido em ambiente estéril para a secagem.

Os testes de atividade antimicrobiana foram realizados com as seguintes cepas padrão: Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 e *Bacillus cereus* ATCC 11778) e a Gram-negativa *Escherichia coli* ATCC 25922. Também foram avaliadas as seguintes cepas obtidas de origem hospitalar: Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina MRSA 112 e *Staphylococcus* spp. *coagulase* negativa) e Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Escherichia coli* beta-lactamase de espectro estendido ESBL, *Salmonella* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Chromobacterium violaceum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei* e *Shigella flexneri*). Todas as cepas foram obtidas da coleção de

bactérias que é mantida no Laboratório de Bacteriologia Médica do Centro de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

As cepas bacterianas foram crescidas em ágar nutriente a 35°C por 24 horas. Preparou-se uma suspensão em solução fisiológica 0,85% com turvação equivalente ao padrão 0,5 da escala de Mac Farland ( $1,0 \times 10^8$  UFC/mL). Em seguida, as suspensões foram semeadas com swab em placas de Petri contendo ágar Mueller Hinton em uma espessura de 4 mm.

Após as sementeiras, os discos com os extratos, os discos impregnados com água destilada estéril (controle negativo) e os discos dos antibióticos vancomicina (30µg) e imipenem (10µg) (controle positivo) foram distribuídos e pressionados sobre o meio de cultura. As placas foram incubadas a 35°C por 24 e 48 horas, onde se realizou duas leituras em 24 e 48 horas. Em cada leitura foi verificado se houve a formação de halo, bem como o tamanho dos mesmos.

## Resultados e discussão

O primeiro relevante aspecto dos resultados obtidos foi a maior eficiência do extrato em inibir as bactérias Gram-positivas em contraste com a ação deste frente às Gram-negativas (Tabelas 1 e 2). A dispersão aquosa do extrato seco de Sanativo<sup>®</sup> apresentou inibição contra: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228, *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina MRSA 112, *Staphylococcus* spp. *coagulase* negativa, *Bacillus cereus*, *Citrobacter freundii*, *Chromobacterium violaceum*, e *Shigella flexneri*. Por outro lado, não apresentou inibição contra: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ESBL, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Shigella sonnei*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca* e *Klebsiella pneumoniae*.

As três concentrações testadas do extrato (50 mg/mL, 100 mg/mL e 170 mg/mL) foram capazes de inibir todas as bactérias Gram-positivas, enquanto que só duas concentrações (170 mg/mL e 100 mg/mL) foram capazes de formar halo de inibição para três bactérias Gram-negativas (*Citrobacter freundii*, *Chromobacterium violaceum*, e *Shigella flexneri*).

Estudos anteriores sobre a ação antimicrobiana de plantas medicinais, mostram que a grande maioria dos ativos das plantas apresenta atividade apenas contra cepas Gram-positivas (KELMANSON, JÄGER, VAN STADEN, 2000; SILVA *et al.*, 2005). Estando, portanto, os resultados aqui relatados em concordância com os demais estudos realizados.

Os resultados da ação antimicrobiana obtidos com a análise realizada devem-se a ação conjunta das plantas constituintes do extrato. Cada espécie vegetal que compõe o fitoterápico Sanativo<sup>®</sup> tem em sua composição fitoquímica componentes capazes de contribuir com a ação antimicrobiana final do produto (AZOUBEL; RIBEIRO, 2013). Algumas espécies como o *Schinus terebinthifolius* Raddi tem uma maior quantidade de estudos científicos que comprovam sua capacidade de inibir o crescimento de microorganismos. E embora haja estudos que indiquem a ação da aroeira e do camapu como inibidores do crescimento de *Escherichia coli*, esse fato pode não ter sido observado neste trabalho devido a diferenças nas concentrações dos extratos utilizadas nos diferentes estudos (LIMA *et al.*, 2005).

Os dados apresentados neste trabalho revelaram que o fitoterápico Sanativo<sup>®</sup> tem grande potencial de uso comprovado como agente antimicrobiano. Embora a sua ação frente às bactérias Gram-negativas tenha sido menor, a dispersão aquosa do extrato de Sanativo<sup>®</sup> teve poder bactericida significativa para todas as bactérias Gram-positivas testadas.

**Tabela 1.** Atividade antimicrobiana do extrato de Sanativo sobre bactérias Gram-positivas.

BACTÉRIAS (Gram-positivas)	Diâmetro dos halos de inibição (mm) Concentrações do extrato				
	50 mg/mL	100 mg/mL	170 mg/mL	Controle Negativo (Água destilada)	Controle Positivo (VAN 30 µg)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC <sup>*</sup> 25923	8,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	13,0 ± 1,0	15,7 ± 1,2	-	19
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 1228	9,0 ± 1,0	11,7 ± 0,6	14,3 ± 1,2	-	20
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	7,7 ± 0,6	9,3 ± 0,6	10,3 ± 0,6	-	17
<i>MRSA 112</i> <sup>**</sup>	8,7 ± 0,6	11,3 ± 1,2	13,3 ± 1,2	-	19
<i>Staphylococcus coagulase</i> negativa	7,3 ± 0,6	10,7 ± 0,6	11,7 ± 0,6	-	19
<i>Bacillus cereus</i> ATTC 11778	7,0 ± 0,0	7,7 ± 0,6	9,7 ± 0,6	-	21

<sup>a</sup>Média de experimento em triplicata ± desvio-padrão.\* ATCC: American Type Culture Collection

\*\* MRSA: *Staphylococcus aureus* Resistente a Metilina. VAN: Vancomicina.

**Tabela 2.** Atividade antimicrobiana do extrato de Sanativo sobre bactérias Gram-negativas.

BACTÉRIAS (Gram-negativas)	Diâmetro dos halos de inibição (mm) Concentrações do extrato			Controle Negativo (Água destilada)	Controle Positivo (Imipenem 10 µg)
	50 mg/mL	100 mg/mL	170 mg/mL		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	30
<i>Escherichia coli</i> ESBL*	-	-	-	-	22
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	30
<i>Enterobacter spp.</i>	-	-	-	-	22
<i>Salmonella spp</i>	-	-	-	-	30
<i>Shigella flexneri</i>	-	7,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	7,7 ± 0,6	-	28
<i>Shiguella sonnei</i>	-	-	-	-	28
<i>Citrobacter freundii</i>	-	7,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	-	22
<i>Chromobacterium violaceum</i>	9,7 ± 0,6	12,3 ± 0,6	13,7 ± 0,6	-	20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	20
<i>Klebsiella penumoniae</i>	-	-	-	-	27
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	-	-	20

<sup>a</sup>Média de experimento em triplicata ± desvio-padrão. \*ESBL: Beta-lactamase de espectro estendido. C.: controle.

## Conclusões

As bactérias Gram-positivas tiveram maior susceptibilidade aos antimicrobianos de origem vegetal do que as Gram-negativas. O fitoterápico Sanativo® apresentou grande potencial de uso como agente antimicrobiano, sendo isso demonstrado através de ensaio *in vitro*. O resultado da análise sugere a possível aplicação no tratamento de doenças infecciosas causadas pelas bactérias testadas.

## Referências

AMORIM M. M. R.; SANTOS L.C. Tratamento da vaginose bacteriana com gel vaginal de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): ensaio clínico randomizado. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, v. 25, n. 2, p. 95-102, 2003.

ANDRADE, C. T. S.; MARQUES, J.G.W; ZAPPI, D.C. Utilização medicinal de cactáceas por sertanejos baianos. **Rev. Bra. Pl. Med.**, v. 8, n. 3, p. 36-42, 2006.

ANTUNES R. M. P.; LIMA E. O.; PEREIRA M. S. V.; CAMARA C. A.; ARRUDA T. A.; CATÃO R. M. R.; BARBOSA T. P.; NUNES X. P.; DIAS C. S.; SILVA T. M. S. Atividade antimicrobiana “*in vitro*” e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 16, n. 4, p. 517-524, 2006.

AZOUBEL M. C. F.; RIBEIRO N. C. R. Efeito local do uso do *Schinus terebinthifolius* e associações (Sanativo) no pós-operatório de exodontias de molares inferiores. **Rev. Bahiana Odont.** v. 4, n. 1, p. 3-17, 2013.

BASTOS G. N. T.; SANTOS A. R. S.; FERREIRA V. M. M.; COSTA A. M. R.; BISPO C. I.; SILVEIRA A. J. A.; NASCIMENTO J. L. M. Antinociceptive effect of the aqueous extract obtained from roots of *Physalis angulata* L. on mice. **J. Ethnopharmacol.** v. 103, n. 1, p. 241-245, 2006.

BAUER A.W.; KIRBY W. M. M.; SHERRIS J. C.; TURCK M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **Am. J. Clin. Path.** v. 45, n. 1, p. 493-496, 1966.

COLE E. R.; DOS SANTOS R. B.; JÚNIOR V. L.; MARTINS J. D. L.; GRECO S. J.; NETO A. C. Chemical composition of essential oil from ripe fruit of *Schinus terebinthifolius* Raddi and evaluation of its activity against wild strains of hospital origin. **Bra. J. Microbiol.** v. 45, n. 3, p. 821-828, 2014.

KELMANSON J. E.; JÄGER A. K.; VAN STADEN J. Zulu medicinal plants with antibacterial activity. **J. Ethnopharmacol.** v. 69, n. 1, p. 241–246, 2000.

LIMA C. R.; COSTA-SILVA J. H.; LYRA M. M. A.; ARAÚJO A. V.; ARRUDA V. M.; DIMECH G.S.; EVÊNCIO L. B.; FRAGA M. C. C. A.; LAFAYETTE S. S. L.; WANDERLEY A.G. Atividade cicatrizante e estudo toxicológico pré-clínico do fitoterápico Sanativo. **Acta Farm. Bonaerense.** v. 25, n. 4, p. 544-549, 2006.

LIMA M. R. F.; XIMENES C. P. A.; LUNA J. S.; SANT’ANA A. E. G. The antibiotic activity of some Brazilian medicinal plants. **Rev. Bras. Farmacogn.** v. 16, n. 1, p. 300-306, 2006.

MARASINI B. P.; BARAL P.; ARYAL P.; et al. Evaluation of Antibacterial Activity of Some Traditionally Used Medicinal Plants against Human Pathogenic Bacteria. **BioMed Res. Inter.** v. 2015, n. 265425, 2015.

SILVA M. T. G.; SIMAS S.M.; BATISTA T.G.F.M.; CARDARELLI P.; TOMASSINI T. C. B. Studies on antimicrobial activity, *in vitro*, of *Physalis angulata* L. (Solanaceae) fraction and physalin B bringing out the importance of assay determination. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** v. 100, n. 7, p. 779-782, 2005.