

# Efeito Antimicrobiano *in Vitro* do Extrato Aquoso e Hidroalcoólico das Folhas de *Anacardium occidentale* e *Mangifera indica*

## Antimicrobial Effect *in Vitro* of Aqueous Extract and Hydroalcoholic of Sheets *Anacardium occidentale* and *Mangifera indica*

Aurilene Gomes Cajado<sup>a\*</sup>; Paulo de Tarso Teles Dourado de Aragão<sup>b</sup>; Maria Auxiliadora Silva Oliveira<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Universidade Federal do Ceará, Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Biotecnologia, Universidade Estadual Vale do Acaraú, Núcleo de Biotecnologia de Sobral.

<sup>b</sup>Universidade Estadual Vale do Acaraú

<sup>c</sup>Universidade Federal do Ceará, Instituto Superior de Teologia Aplicada

\*E-mail: myresearchbio@hotmail.com.

### Resumo

As doenças causadas pelos micro-organismos são seriamente agravadas pela resistência generalizada ocasionada pelo uso indiscriminado dos antimicrobianos. A busca por novos agentes antimicrobianos tornou-se o principal objetivo de muitos grupos de pesquisa. Muitos deles focando seu trabalho no Reino Plantae. Em face da capacidade evolutiva dos micro-organismos e apesar dos antibióticos sintéticos serem uma opção viável, o estudo dos Metabólitos Secundários das Plantas continua sendo um excelente ponto de partida para a descoberta de moléculas de potencial antimicrobiano. Portanto, neste trabalho foi verificado o efeito antimicrobiano do extrato aquoso e hidroalcoólico de folhas de *Anacardium occidentale* e *Mangifera indica* frente a bactérias multirresistentes, empregando a técnica de poços por difusão em Agar. O presente estudo demonstrou que o extrato hidroalcoólico apresentou melhor atividade antimicrobiana, quando comparado ao extrato aquoso. Nos ensaios de antibiose foi verificada atividade antibacteriana para espécie de *Staphylococcus aureus* quando exposto ao extrato aquoso de *Anacardium occidentale* na concentração de 150 mg.mL<sup>-1</sup>. Nenhuma das espécies estudadas apresentou inibição do crescimento, quando expostas ao extrato aquoso de *Mangifera indica*. Os maiores halos de inibição ocorreram com o extrato hidroalcoólico de *Anacardium occidentale* frente à espécie de *Staphylococcus aureus* com a formação de um halo de inibição de 10 mm. Alguns processos devem ser considerados, dentre eles o procedimento utilizado para o isolamento e purificação dos Metabólitos Secundários das Plantas, o tipo de amostra estudada e a concentração adotada nos ensaios. Tais resultados sugerem que os produtos vegetais analisados representam um potencial para síntese de moléculas com atividade antibacteriana em processos infecciosos causados por *Staphylococcus aureus*, porém carece de estudos mais aprofundados que confirmem a hipótese. Outras metodologias poderiam evidenciar outros resultados com as espécies envolvidas, tais como outras formas de obtenção dos extratos e outras concentrações.

**Palavras-chave:** Antibiose. Plantas. Extratos Vegetais.

### Abstract

Diseases caused by microorganisms are seriously aggravated by widespread resistance caused by the indiscriminate use of antibiotics. The search for new antimicrobial agents became the main goal of a lot of research groups. A lot of them focusing their work on the Kingdom Plantae. Given the evolutionary ability of microorganisms and synthetic antibiotics and despite of being a viable option, the study of Secondary Metabolites of Plants remains an excellent starting point for the discovery of potential antimicrobial molecules. Therefore, this study evaluated the antimicrobial effect of hydroalcoholic and aqueous extracts of leaves of *Anacardium occidentale* and *Mangifera indica* against multidrug-resistant bacteria using a technique well by diffusion in Agar. This study showed that hydroalcoholic extract showed better antimicrobial activity when compared to aqueous extract. In antibiosis tests antibacterial activity was verified to species of *Staphylococcus aureus* when exposed to aqueous extract of *Anacardium occidentale* in the concentration of 150 mg.mL<sup>-1</sup>. None of the species showed growth inhibition when exposed to aqueous extract of *Mangifera indica*. The largest zones of inhibition occurred at the hydroalcoholic extract of the species *Anacardium occidentale* front of *Staphylococcus aureus* with the formation of an inhibition zone of 10 mm. Some procedures should be considered among them, the procedure used for the isolation and purification of Secondary Metabolites of Plants, the type of sample and the concentration adopted in the testing. These results suggest that plant products analyzed represent a potential for synthesis of molecules with antibacterial activity in infectious processes caused by *Staphylococcus aureus*, but it needs further study to confirm the hypothesis. Other methodologies could show other results with the species involved, such as other forms of obtaining extracts and other concentrations.

**Keywords:** Antibiosis. Plants. Plant Extracts.

## 1 Introdução

Os micróbios foram os primeiros organismos na Terra precedidos pelos animais e plantas. Eles são base da biosfera, tanto em uma perspectiva evolutiva como ambiental. Estimou-se que as espécies microbianas compreendem cerca de 60% da biomassa da Terra<sup>1</sup>. A diversidade genética, metabólica e fisiológica desses micro-organismos os torna grandes ameaças para a saúde. Outros dados publicados pela Organização

Mundial de Saúde - OMS aponta que cerca de um bilhão de pessoas no mundo são acometidas por doenças infecciosas<sup>2</sup>. As doenças causadas por esses micro-organismos são seriamente agravadas pela resistência generalizada ocasionada pelo uso indevido e extenso dos antimicrobianos na clínica, na comunidade, na pecuária e na agricultura resultando em diversos mecanismos de resistência<sup>3,4</sup>.

A resistência bacteriana pode ocorrer por meio de

mecanismos intrínsecos e adquiridos. A resistência intrínseca ocorre, naturalmente, no cromossomo bacteriano, a saber:  $\beta$ -lactamase AMPc de bactérias gram-negativas e sistemas de efluxo de Resistência a Múltiplas Drogas - RMD<sup>5</sup>. A resistência adquirida envolve mutações em genes alvo do antibiótico e a transferência ocorre por meio de diferentes tipos de segmentos móveis, a guisa de exemplo os plasmídeos, os bacteriófagos, os transposons<sup>6</sup>. Essa transferência pode ocorrer em organismos evolutivamente distantes como bactérias Gram-positivas e Gram-negativas<sup>5</sup>. Os organismos multirresistentes se espalharam pelo mundo provocando falhas clínicas no tratamento de infecções e crises de saúde pública<sup>5</sup>.

Alguns dos micro-organismos mais problemáticos da

classe dos RMD que são encontrados atualmente incluem: *Pseudomonas aeruginosa* (origem do solo) que causa pneumonia hospitalar; *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* com espectro de atividade estendido aos  $\beta$ -lactâmicos; *Enterococcus* resistentes a Vancomicina - VRE; *Staphylococcus aureus* resistentes a Meticilina - MRSA; *Staphylococcus aureus* resistentes a Vancomicina (VRSA) e *Mycobacterium tuberculosis* extensivamente resistentes às Drogas - XDR. O Quadro 1 exemplifica algumas características gerais acerca dos organismos Resistentes a Múltiplas Drogas<sup>5,3</sup>. Esses são apenas alguns exemplos, mostrando que a descoberta e desenvolvimento de novos agentes eficazes contra as infecções são fundamentais.

**Quadro 1:** Características gerais de Organismos Resistentes a Multidrogas

Organismo	Infecções comuns <sup>a</sup>	Resistência a antibióticos	Drogas usadas no tratamento de RMD <sup>b</sup>
<i>P. aeruginosa</i>	Pulmão, ferimentos	B-lactâmicos, fluoroquinolona, aminoglicosídeos	Colistina
<i>Acinetobacter</i> spp.	Pulmão, ferimentos, ossos, sangue	$\beta$ -lactâmicos, fluoroquinolona, aminoglicosídeos	Colistina, Tigeciclina
<i>E. coli</i> e <i>K. pneumoniae</i> de espectro estendido a $\beta$ -lactamases	Urinária, biliar, trato gastrointestinal, pulmões, sangue	$\beta$ -lactâmicos, fluoroquinolona, aminoglicosídeos	Colistina ( <i>K. pneumoniae</i> ), Tigeciclina
<i>Enterococcus</i> Resistentes a Vancomicina	Sangue, coração, intra-abdominal	Vancomicina	Quinupristina/Dalfopristina, Linezolida, Daptomicina
<i>S. aureus</i> Resistentes a Meticilina	Pele, tecidos moles, trato respiratório, sangue	$\beta$ -lactâmicos, fluoroquinolona, macrolídeos	Quinupristina/Dalfopristina, Linezolida, Daptomicina, Tigeciclina, Vancomicina
<i>S. pneumoniae</i>	Pulmão, sangue	$\beta$ -lactâmicos, macrolídeos, tetraciclina, cotrimoxazol	Fluoroquinolonas, Tigeciclina
<i>M. tuberculosis</i> (XDR)	Pulmão	Rifampicina, isoniazida, e três dos seguintes elementos: aminoglicosídeo, polipeptídeos, fluoroquinolona, tioamidas, cycloserine, ou ácido para-amino-salicílico	3 <sup>rd</sup> Linha de agentes, combinações de drogas

a) Trabulsi, 2015; b) Os agentes, quer tenham sido aprovados para uso por uma agência reguladora (por exemplo, a FDA), têm demonstrado utilidade no tratamento de infecção, ou exibem promissora atividade *in vitro* e aguardam uma determinação da eficácia clínica.

Fonte: Alekshun e Levy<sup>5</sup>

A busca por novos agentes antimicrobianos se tornou o principal objetivo de muitos grupos de pesquisa voltados para a química medicinal e farmacologia. Muitos deles focando seu trabalho no Reino Plantae<sup>7</sup>. Cerca de 10-30% de todas as plantas superiores conhecidas são usadas em um contexto terapêutico e são consideradas como sendo um medicamento<sup>8</sup>, dependendo da região e diversidade cultural. Como exemplo da família *Anacardiaceae* que é comumente usada para diversos fins medicinais. Dentre os compostos amplamente estudados nessa família, os fenóis e taninos têm apresentado propriedades defensivas, incluindo agentes antibacterianos e antifúngicos<sup>9</sup>.

Nas plantas, o metabolismo é dividido em primário (ou de macromoléculas) e secundário (ou micromoléculas). No primário há um conjunto de processos metabólicos que

desempenham funções essenciais, como de fotossíntese e respiração. Na atividade metabólica secundária, os vegetais têm a capacidade de produzir substâncias utilizadas na defesa contra predação por micro-organismos, insetos, herbívoros e outros causadores de estresse<sup>10</sup>.

De acordo com Caetano e Peixoto Neto<sup>11</sup>, os metabólitos secundários podem ser divididos em quatro classes: compostos fenólicos, terpenóides, compostos nitrogenados e cumarinas. Atualmente, há uma lista abrangente de todos os compostos presentes no metabolismo secundário das plantas - MSP e, alguns destes se originam a partir de diferentes vias biossintéticas. Levando muitos autores a acreditarem que a fronteira entre o metabolismo secundário e primário é bastante turva<sup>3</sup>.

Os metabólitos secundários das plantas podem

afetar a célula de várias maneiras. Estas incluem a perturbação da função e estrutura da membrana plasmática, comprometimento da síntese e função dos ácidos nucleicos (DNA/RNA), interferência no metabolismo intermediário (por exemplo, ATPase), indução da coagulação de constituintes citoplasmáticos e interferência na comunicação intracelular (Quorum sensing)<sup>3</sup>. A literatura aponta que o principal alvo dos MSPs é a membrana plasmática podendo afetar a estrutura, a integridade, a permeabilidade ou a funcionalidade desta de várias maneiras<sup>12</sup>.

O isolamento de produtos naturais segue alguns procedimentos. O primeiro passo é a obtenção do extrato bruto, esse pode ser um extrato solvente, um óleo essencial ou um extrato supercrítico<sup>13</sup>. Os extratos brutos, em geral, representam misturas altamente complexas (de ambos os metabólitos secundários e primários), pertencentes a diferentes classes biossintéticas e químicas, que compartilham algumas características, tais como, polaridade e/ou volatilidade. Existem, em geral, três níveis de investigação da atividade antimicrobiana de metabólitos das plantas dependendo do tipo de amostra biológica. No nível 1 é verificada se há atividade antimicrobiana do extrato bruto e nos níveis 2 e 3 são observados o nível de atividade em compostos semi-puro e puro, respectivamente. O estudo sobre as propriedades de diferentes extratos brutos de plantas é mais frequente por duas razões gerais, a saber: representa uma maneira fácil para ensaios biológicos e corresponde este as práticas empregadas na medicina popular, desta forma, torna possível a prática destas metodologias no ambiente tradicional de comunidades<sup>14,15</sup>.

Ao estudar os MSPs como potenciais antibióticos, algumas questões devem ser abordadas, relacionadas e, principalmente, a equivalência da atividade *in vitro* e *in vivo*, a possibilidade de toxicidade e especificação das rotas de aplicação. Estudos mais rigorosos sobre a farmacodinâmica e mecanismo de ação dos MSPs, assim como a compreensão das sinergias farmacológicas são necessários para fazer um progresso real nesta área. Enfim, sabe-se da capacidade evolutiva dos micro-organismos e apesar dos antibióticos sintéticos serem uma opção viável, o estudo dos MSPs continua sendo um excelente ponto de partida para a descoberta de moléculas com potencial antimicrobiano, cabendo aos pesquisadores de diversas áreas encontrarem a melhor maneira de usar o potencial escondido no Reino Plantae<sup>15,3</sup>.

A família Anacardiaceae compõe 77 gêneros e cerca de 600 espécies, notáveis por apresentarem frutos comestíveis, em sua maioria, no formato de drupas<sup>16</sup>.

A *Anacardium occidentale* (cajeeiro) é uma árvore da família Anacardiaceae. Essa família botânica contém espécies de uso para o homem com função alimentícia, madeireira e medicamentosa como a aroeira, o caju, a cajá, a manga, a seriguela. Com copa baixa, de 5-10 m de altura. Folhas simples, de 8-14 cm de comprimento. Na medicina caseira são utilizados preparos de uso oral, feitas com a entrecasca, a goma,

e o líquido da castanha do caju - LCC, tradicionalmente, tidas como antidiabética, adstringente, antidiarreica, depurativa, tônica e antiasmática<sup>17</sup>.

A *Mangifera indica*, conhecida popularmente como mangueira, é pertencente à família das anacardiáceas e é originária da Ásia austro-oriental, porém hoje é naturalizada em todas as regiões intertropicais. Trata-se de uma árvore de elevado porte, às vezes, com mais de 20 m de altura e até 2,50 m de diâmetro, esgalhada, formando densa e frondosa copa, em cuja sombra não cresce planta alguma<sup>18</sup>.

Diante da necessidade de encontrar agentes antimicrobianos eficazes e o potencial ainda pouco explorado do Reino Plantae, o presente estudo tem o objetivo de testar o efeito antimicrobiano *in vitro* de extratos aquosos e extratos hidroalcoólicos de folha das espécies da família Anacardiaceae, *Anacardium occidentale* e *Mangifera indica*, frente às bactérias da coleção ATCC (American Type Culture Collection): *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.

## 2 Material e Métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Microbiologia de Parasitologia da Universidade Federal do Ceará - UFC, campus de Sobral/CE.

Trata-se de uma pesquisa de caráter experimental, quantitativa, observacional. O material botânico composto de folhas das espécies estudadas foi coletado e, devidamente identificado, no Centro de Ciências da Saúde – CCS da Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA.

Após coletadas, as folhas foram lavadas e secadas à sombra e sem sobreposição, por período de cinco dias<sup>19</sup>. Em seguida, os pecíolos foram retirados e, depois, os limbos foram triturados utilizando almofariz e pistilo, até reduzidos a pó. Utilizou-se de cada planta 15 g do pó (dos limbos) em 100 mL de água estéril fervida, utilizando o método de infusão. Após resfriamento, foram armazenadas na geladeira em recipientes protegidos da luz. No dia do teste de avaliação antimicrobiana, a mistura foi filtrada em papel-filtro obtendo-se o extrato bruto aquoso. Para o extrato hidroalcoólico foi adicionado 15 g do pó em 100 mL da solução contendo água destilada estéril com álcool etílico 100% PA (1:1).

As diluições para os testes foram feitas a partir dos extratos bruto (aquoso e hidroalcoólico). Foram testadas para as duas espécies três diluições: 150 mg.mL<sup>-1</sup>, 75 mg.mL<sup>-1</sup> e 37,5 mg.mL<sup>-1</sup>. Estes ficaram em recipientes estéreis e ao abrigo de luz. Como controle negativo foi usada a água destilada estéril e como controle positivo amoxicilina associado a ácido clavulânico. Os testes foram realizados em triplicata.

As bactérias estudadas foram: *Escherichia coli* ATC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603. As cepas foram cedidas pelo Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Ceará/Sobral. As mesmas se encontram armazenadas em BHI glicerol a 20% em freezer -20 °C.

Para a reativação das bactérias foi retirado uma alíquota de 100 µL das amostras em estoque e acrescentadas em 5 mL de meio BHI (Brain Heart Infusion Broth) caldo (Himedia® Índia) incubada a 37 °C por 24 horas. Após isso, foi feito o ajuste para escala de 0,5% Mac Farland.

A avaliação da atividade antibacteriana foi realizada a partir de espécies do gênero *Anacardiaceae*. Os extratos aquosos e hidroalcoólico das folhas de *Anacardium occidentale* e *Mangifera indica* foram realizados em triplicata, empregando a técnica de poços por difusão em Agar Müller Hinton (MH) (Himedia®, Mumbai, Índia). Em controle positivo foram usados discos, contendo 30 µg de Amoxicilina associada a ácido clavulânico (Sencidise®). Todas as cepas, após reativação, foram diluídas em solução salina estéril a 0,85% e ajustadas de acordo com a escala de 0,5% McFarland. Foram retiradas alíquotas das culturas bacterianas previamente diluídas e semeadas, com auxílio de *swab* pela técnica do esgotamento, em placas de petri, contendo Agar MH e adicionados aos poços 20 uL de cada extrato<sup>20</sup>. Após um período de 20 minutos, para a absorção do extrato pelas paredes do poço, as placas foram incubadas em estufa a 37 °C por um período de 24 horas. Após o período de incubação, mediram-se os halos de inibição com auxílio de uma régua.

Foram considerados com potencial antimicrobiano contra os isolados bacterianos aqueles extratos, que geraram halos  $\geq 7$  mm<sup>21</sup>.

De acordo com a portaria 466/12 do Ministério da Saúde, esse trabalho fica isento de aprovação de Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, pois não envolve em nenhum momento, de forma direta ou indireta, seres humanos. Também fica isento de aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais, pois também não utiliza animais em nenhuma etapa.

As médias dos halos gerados, a partir das diferentes espécies testadas e das diferentes concentrações, foram comparadas pelo Teste de Tukey com probabilidade de 5%.

### 3 Resultados e Discussões

Na análise dos dados foi verificada atividade antimicrobiana sobre o micro-organismo *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 que apresentou halo de inibição de 9,5 mm frente ao extrato aquoso de *Anacardium occidentale* na concentração de 150 mg.mL<sup>-1</sup>. Essa atividade não foi observada para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 em nenhuma das concentrações do extrato aquoso de *Mangifera indica*. No Quadro 1 estão sumarizados os resultados dos ensaios de antibiose com extrato bruto aquoso.

**Quadro 1:** Atividade antimicrobiana de extratos aquosos de folhas de *Anacardium occidentale* e *Mangifera indica* em diferentes concentrações

Espécies	Concentração do Extrato Aquoso (mg/mL)			CN	CP
	150	75	37,5		
	<i>Escherichia coli</i>				
<i>A. occidentale</i>	0 mm	0 mm	0 mm	23,4 mm	0 mm
<i>M. indica</i>	0 mm	0 mm	0 mm	23 mm	0 mm
	<i>Staphylococcus aureus</i>				
<i>A. occidentale</i>	9,5 mm <sup>a</sup>	0 mm	0 mm	38 mm <sup>b</sup>	0 mm
<i>M. indica</i>	0 mm	0 mm	0 mm	44,5 mm	0 mm
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>				
<i>A. occidentale</i>	0 mm	0 mm	0 mm	14,5 mm	0 mm
<i>M. indica</i>	0 mm	0 mm	0 mm	14 mm	0 mm

CP: controle positivo; CN: controle negativo. Médias seguidas de letras iguais na linha indicam que no nível de 5% significância, não há diferença estatística entre as médias.

**Fonte:** Dados da pesquisa.

As demais espécies estudadas de *Escherichia coli* ATC 25922 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, não apresentaram inibição de crescimento frente aos extratos aquosos de *Anacardium occidentale* e *Mangifera indica* em nenhuma das concentrações estudadas (Quadro 1).

Satish *et al.*<sup>22</sup> mostrou que o extrato aquoso de folhas de *Anacardium occidentale* apresentou atividade antibacteriana sobre *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella paratyphi* A, *Salmonella paratyphi* B, *Salmonella Typhi*, *Salmonella typhimurim*, *Shigella boydii*, *Shigella flexneri* e *Staphylococcus aureus* com concentração inibitória mínima variou 10 a 50

µg/mL. Estes resultados sugerem a ação antibacteriana do extrato aquoso de folhas de *Anacardium occidentale* que em parte, foi ser comprovada no presente estudo para a espécie de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, contudo, as espécies de *Escherichia coli* ATC 25922 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 não apresentaram inibição do crescimento em nenhuma das concentrações estudadas.

Segundo Taheri<sup>23</sup>, as bactérias Gram-negativas exibem maior resistência de compostos ativos, quando comparadas as bactérias Gram-positivas que são mais sensíveis à infusão de plantas e óleo essencial de ervas. Essa resistência é atribuída à presença de septo exterior unificado complexo presente nas

bactérias Gram-negativas e que reduz a taxa de penetração de compostos antimicrobianos e compostos hidrofóbicos, tais como os óleos essenciais<sup>12</sup>.

Nos ensaios com extratos hidroalcoólicos de *Anacardium occidentale* e *Mangifera indica* foi verificada atividade antimicrobiana para a espécie de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. A atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium*

*occidentale* foi observada a partir da concentração de 75 mg.mL<sup>-1</sup> que apresentou halo de inibição de 8 mm. Essa atividade foi mais acentuada frente à concentração de 150 mg.mL<sup>-1</sup>, que apresentou halo de 10 mm. Ao analisar o extrato hidroalcoólico de *Mangifera indica* foi observado halo de inibição para todas as concentrações estudadas, que variam de 9 a 9,5 mm (Quadro 2).

**Quadro 2:** Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de folhas de *Anacardium occidentale* e *Mangifera indica* em diferentes concentrações

Espécies	Concentração do extrato aquoso (mg/mL)			CN	CP
	150	75	37,5		
	<i>Escherichia coli</i>				
<i>A. occidentale</i>	0 mm	0 mm	0 mm	19 mm	0 mm
<i>M. indica</i>	0 mm	0 mm	0 mm	18,5 mm	0 mm
	<i>Staphylococcus aureus</i>				
<i>A. occidentale</i>	10 mm <sup>a</sup>	8 mm <sup>a</sup>	0 mm	20 mm <sup>b</sup>	0 mm
<i>M. indica</i>	9,5 mm <sup>a</sup>	9 mm <sup>a</sup>	9 mm <sup>a</sup>	21 mm <sup>b</sup>	0 mm
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>				
<i>A. occidentale</i>	0 mm	0 mm	0 mm	12 mm	0 mm
<i>M. indica</i>	0 mm	0 mm	0 mm	12,5 mm	0 mm

CP: controle positivo; CN: controle negativo

Médias seguidas de letras iguais na linha indicam que no nível de 5% significância, não há diferença estatística entre as médias.

**Fonte:** Dados da pesquisa.

Esses resultados corroboram Dahake *et al.*<sup>24</sup> que ao estudarem os extratos etanólico e com éter de petróleo de folhas de *Anacardium occidentale* verificaram atividade antimicrobiana para diversas espécies, dentre estas a *Staphylococcus aureus*. Um trabalho similar utilizando extrato etanólico de folhas de *Mangifera indica* não apresentou atividade inibitória para a espécie de *S. aureus* e observou halo de inibição para *E. coli*, diferindo com os resultados obtidos nesse estudo<sup>25</sup>. A divergência de resultados para algumas espécies pode ser justificada pela metodologia aplicada na obtenção dos extratos, que sugere possuírem diferentes classes biossintéticas e químicas.

Estudos com a espécie de *Mangifera indica* L. var. *Rasapuri* analisando três tipos de extratos de raízes, a saber: éter de petróleo, acetato de etílico, etanol e água. Foi verificada atividade antimicrobiana para as espécies *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* com concentração mínima inibitória variando entre 2 mg/mL e 4 mg/mL. Trabalhos com extratos de *Mangifera indica*, usando folhas não exibiram atividade antimicrobiana significativa, quando comparada ao de raízes da espécie de *Mangifera indica* L. var. *Rasapuri*<sup>26</sup>. Estes resultados justificam a ausência de inibição de crescimento nas espécies aqui estudadas, quando expostas a extrato hidroalcoólico de *Mangifera indica*. Além de indicar que a atividade antimicrobiana pode variar de acordo com o tipo de amostra estudada.

As espécies de *Escherichia coli* ATC 25922 e *Klebsiella*

*pneumoniae* ATCC 700603 não apresentaram sensibilidade, quando expostos ao extrato hidroalcoólico de folhas de *Anacardium occidentale* e *Mangifera indica* para nenhuma das concentrações estudadas (Tabela 2). Esses resultados confirmam os estudos de Taheri<sup>23</sup>, que propõe uma maior resistência das bactérias Gram-negativas aos compostos bioativos.

Trabalhos com extrato de vinte e duas plantas pela técnica de microdiluição em caldo verificou atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos com metanol das partes aéreas de *Anacardium occidentale* para espécie de *Staphylococcus aureus*. Contudo, as bactérias Gram-negativas, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*, foram menos sensíveis ao teste<sup>27</sup>.

Garcia e Olanda<sup>28</sup> ao estudarem o extrato bruto hidroalcoólico de *Mangifera indica* verificaram atividade antimicrobiana *in vitro* frente à cepa de *S. aureus*, com concentração inibitória mínima (MIC) de 1,0 µg.disco<sup>-1</sup>. Entretanto, este extrato não apresentou atividade antimicrobiana frente às bactérias Gram-negativas (*E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. typhi*). Esses resultados confirmam os obtidos nesse estudo, que demonstrou maior suscetibilidade das bactérias Gram-positivas, quando submetidas ao extrato de folhas de *Mangifera indica*.

Ayepola e Ishola<sup>29</sup> ao avaliarem a propriedade antimicrobiana frente a seis espécies bacterianas usando extrato aquoso e metanólico de folhas de *Anacardium occidentale*

verificando-se maior atividade no extrato metanólico, quando comparado ao extrato aquoso frente às bactérias *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus anthracis* e *Candida albicans*. Alguns autores sugerem que essa capacidade se deve a obtenção de uma ampla gama de propriedades antibacterianas presentes no extrato metanólico, quando comparados aos extratos aquosos, a saber: os taninos que são polifenóis capazes de se ligarem e de precipitarem proteínas<sup>27</sup>. Estes resultados são similares aos obtidos nesse estudo, que apresentaram halos de inibição diferentes e/ou mais expressivos em ensaios com extratos hidroalcoólicos, quando comparados aos extratos aquosos.

#### 4 Conclusão

O presente estudo demonstrou que o extrato hidroalcoólico do *Anacardium occidentale* apresentou melhor atividade antimicrobiana, quando comparado ao extrato aquoso. Por meio da técnica de poços por difusão em ágar, os maiores halos de inibição ocorreram com os extratos hidroalcoólicos de *Anacardium occidentale* frente à espécie de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, a maior zona de inibição para os ensaios do extrato hidroalcoólico foi de 10 mm.

Tais resultados sugerem que os produtos vegetais analisados representam um potencial para síntese de moléculas com atividade antibacteriana em processos infecciosos causados por *Staphylococcus aureus*.

#### Referências

- Fraser CM, Eisen JA, Salzberg SL. Microbial genome sequencing. *Nature* 2000;406:799-803.
- Global Health Observatory Data Repository – GHODR [online database]. Cause-specific mortality 2008. [acesso em 15 abr 2015]. Disponível em <http://apps.who.int/ghodata/>.
- Radulovi CNS, Blagojevi CPD, Stojanovic-Radic ZZ, Stojanovi CNM. Antimicrobial plant metabolites: structural diversity and mechanism of action. *Curr Med Chem* 2013;20:932-52.
- Andersson DI, Hughes D. Evolution of antibiotic resistance at nonlethal drug concentrations. *Drug Resist Updat* 2012;15:162-72.
- Alekshun MN, Levy SB. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell* 2007;128:1037-50.
- Fadli M, Chevalier J, Hassani L, Mezrioui NE, Pages JM. Natural extracts stimulate membrane-associated mechanisms of resistance in Gram-negative bacteria. *Lett Appl Microbiol* 2014;58:472-7.
- Savoia D. Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics. *Future Microbiol* 2012;7(8):979-90.
- Leonti M, Casu L, Sanna F, Bonsignore L. A comparison of medicinal plant use in Sardinia and Sicily-De Materia Medica revisited. *J Ethnopharmacol* 2009;121(2):255-67.
- Madikizela B, Aderogba MA, Van Staden J. Isolation and characterization of antimicrobial constituents of *Searsia chirindensis* L. (Anacardiaceae) leaf extracts. *J Ethnopharmacol* 2013;150(2):609-13.
- Moura FML. Efeito antimicrobiano e antiaderente in vitro de plantas da caatinga frente a micro-organismos patogênicos de interesse na área de alimentos. 2013. 71f. Dissertação.

[Mestrado em Ciência Animal Tropical] - Universidade Federal Rural de Pernambuco; 2013

- Caetano LC, Peixoto Neto PAS. Plantas medicinais: do popular ao científico. Maceió: EDUFAL; 2005.
- Farzaneh V, Carvalho IS. A review of the health benefits potentials of herbal plant infusions and their mechanism of actions. *Ind Crops Prod* 2015;65:247-58.
- Sarker SD, Latif Z, Gray AI. Natural products isolation (Methods in biotechnology). Totowa: Humana; 2005.
- Van Vuuren S, Viljoen A. Plant-based antimicrobial studies—methods and approaches to study the interaction between natural products. *Planta Med* 2011;77(11):1168-82.
- Gertsch J. Botanical drugs, synergy, and network pharmacology: forth and back to intelligent mixtures. *Planta Med* 2011;77(11):1086-98.
- Min TNT, Barfod A. Anacardeaceae. Pequim; 1980.
- Lorenzi H, Matos FJA. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas. São Paulo: Instituto Plantarum; 2008.
- Braga R. Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. Fortaleza: Coleção Mossoroense; 2001.
- Matos FJA. Plantas Medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. Fortaleza: Imprensa Universitária; 2007.
- Fernandes TT, Fernandes ATS, Pimenta SC. Atividade antimicrobiana das plantas *Plathymenia reticulata*, *Hymenea courbaril* e *Guazuma ulmifolia*. *Rev Patol Trop* 2005;34(2):113-22.
- Rodrigues SV. Avaliação da atividade antibacteriana in vitro de extratos de *Symphytum officinale*, do óleo essencial de *Lippia sidoides* e do *Carvacrol*. Sobral; INTA; 2013.
- Satish S, Raghavendra MP, Raveesha KA. Evaluation of the antibacterial potential of some plants against human pathogenic bacteria. *Adv Biol Res* 2008;2:44-8.
- Taheri A, Seyfan A, Jalalinezhad S, Nasery F. Antibacterial effect of *Myrtus communis* hydro-alcoholic extract on pathogenic bacteria. *ZJRMS* 2013;15(6):19
- Dahake AP, Joshi VD, Joshi AB. Antimicrobial screening of different extract of *Anacardium occidentale* Linn. Leaves. *Int J ChemTech Res* 2009;1(4):856-8.
- Mustapha AA, Enemali MO, Olose M, Owuna G, Ogaji JO, Idris MM, Aboh VO. Phytoconstituents and antibacterial efficacy of Mango (*Mangifera indica*) leave extracts. *J Med Plants Stud* 2014;2(5):19-23.
- Latha MS, Latha KP, Vagdevi HM, Virupaxappa BS, Nagashree AS. Phytochemical investigation and antibacterial activity of *Mangifera indica* L. Var. Rasapuri Root extracts. *Int J Med Arom Plants* 2011;1(2):45-7.
- Madureira AM, Ramalhete C, Mulhovo S, Duarte A, Ferreira MJ. Antibacterial activity of some African medicinal plants used traditionally against infectious diseases. *Pharm Biol* 2012;50(4):481-9.
- Garcia APM, Orlanda JFF. Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro do extrato bruto hidroalcoólico de *Mangifera indica* Linneau. *Rev Cubana Plant Med* 2014;19(3).
- Ayepola OO, Ishola RO. Evaluation of antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* L. *Adv Med Dent Sci* 2009;3:1-3.
- Varghese J, Tumkur VK, Ballal V, Bhat GS. Antimicrobial effect of *Anacardium occidentale* leaf extract against pathogens causing periodontal disease. *Adv Biosci Biotechnol* 2013;4(8).