



ANÁLISE EXPERIMENTAL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Brosimum gaudichaudii*

ANDRIELE DA SILVA MENEZES; EDUARDA DE OLIVEIRA PINTO; BRUNO STEFANELLO VIZZOTTO; ALTEVIR ROSSATO VIANA; ANDRÉ PASSAGLIA SCHUCH

RESUMO

O Brasil, com sua vasta biodiversidade, abriga diversas plantas com propriedades terapêuticas, como o *Brosimum gaudichaudii*, que é rica em psoralenos, compostos bioativos com potencial antimicrobiano. Encontrada principalmente no cerrado, essa planta tem sido estudada devido à sua ação contra infecções bacterianas resistentes, como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, além de apresentar atividade antifúngica contra *Candida sp.* A resistência bacteriana crescente tem impulsionado a busca por alternativas terapêuticas, tornando plantas como *B. gaudichaudii* promissoras para o desenvolvimento de novos tratamentos. Este estudo teve como objetivo investigar o potencial antimicrobiano usando extrato das raízes obtidos por maceração com uma solução hidroalcoólica (70%). A atividade antimicrobiana foi testada por dois métodos: difusão em poços, para observar zonas de inibição, e microdiluição em caldo, para determinar as concentrações inibitórias mínimas (CIM) e bactericidas mínimas (CBM). Os resultados não mostraram atividade antimicrobiana significativa nas concentrações testadas através das metodologias aplicadas. Esses resultados indicam que, nas condições experimentais aplicadas, o extrato não apresentou efeito antimicrobiano e antifúngico. Isso sugere a necessidade de ajustes nas concentrações e nas condições de extração para otimizar a obtenção dos compostos bioativos descritos na literatura.

Palavras-chave: Fitoterápico; Bactéria; Multirresistência.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é conhecido por sua enorme diversidade de plantas, com destaque para o cerrado, rico em flora e fauna. O uso de plantas medicinais é uma prática tradicional no país, com o conhecimento transmitido ao longo das gerações (Soares *et al.*, 2021). Recentemente, a ciência tem se interessado em confirmar e explorar o potencial terapêutico dessas plantas para novos tratamentos (Bednarczuk *et al.*, 2010).

A crescente resistência bacteriana aos antibióticos tem impulsionado a busca por alternativas naturais, e *Brosimum gaudichaudii* Trécul, uma planta endêmica do cerrado, tem ganhado destaque (Menezes *et al.*, 2021; Araujo *et al.*, 2015). Com alta concentração de psoralenos em suas raízes, essa planta pertence à família Moraceae e apresenta propriedades fotossensibilizantes e uma gama de atividades farmacológicas, como ação antioxidante, antiinflamatória, antimicrobiana e antifúngica (Sumorek-Wiandro *et al.*, 2020).

Estudos mostram que os extratos de suas folhas e cascas possuem atividade antimicrobiana significativa contra bactérias multirresistentes, como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pyogenes*, além de eficácia contra cepas de *Candida sp.*, o que amplia suas possibilidades no combate a infecções bacterianas e fúngicas. A planta também se destaca na medicina popular e pode contribuir para o desenvolvimento de novos medicamentos fitoterápicos (Borges *et al.*, 2017).

Além disso, os psoralenos presentes em *B. gaudichaudii* têm sido utilizados no tratamento de doenças dermatológicas como o vitiligo, especialmente quando combinados com fototerapia (Leão *et al.*, 2005). O crescente interesse na pesquisa dessas plantas reforça o potencial do Brasil como fonte de recursos naturais valiosos para a medicina moderna, oferecendo alternativas sustentáveis para o tratamento de diversas condições de saúde.

1.1 JUSTIFICATIVA

A resistência bacteriana tornou-se uma das maiores ameaças à saúde pública global, com a crescente prevalência de infecções causadas por bactérias multirresistentes, as quais apresentam resistência a múltiplos antibióticos. A Organização Mundial da Saúde (OMS) alerta sobre o impacto dessas superbactérias, que dificultam o tratamento de infecções comuns, tornando necessárias alternativas terapêuticas eficazes para combater esse problema (Monteiro *et al.*, 2020). Dentre as opções viáveis, os fitoterápicos emergem como uma alternativa promissora, pois são amplamente utilizados por suas propriedades antimicrobianas, e sua eficácia tem sido respaldada por diversos estudos científicos (Ribeiro, 2019).

O *Brosimum gaudichaudii* Trécul, popularmente conhecido como Mama-cadela, é uma planta da família Moraceae encontrada principalmente no cerrado brasileiro. Suas partes, como raízes, cascas e folhas, têm sido utilizadas na medicina tradicional para o tratamento de várias condições. O interesse crescente por esta planta se deve à presença de compostos bioativos, como os psoralenos, que demonstram atividade antimicrobiana significativa (Koh *et al.*, 2015). Estudos realizados por Borges *et al.* (2017) evidenciam a eficácia dos extratos das cascas e folhas de *B. gaudichaudii* no combate a bactérias multirresistentes, destacando seu potencial como uma alternativa terapêutica no contexto da resistência bacteriana.

Além disso, a utilização de plantas medicinais, como o *B. gaudichaudii*, não se limita apenas à eficácia antimicrobiana, mas também traz benefícios como o custo mais acessível e o incentivo ao uso sustentável da biodiversidade nacional (Silva *et al.*, 2021). Nesse sentido, o Ministério da Saúde reconhece a importância da industrialização de fitoterápicos para garantir sua segurança, qualidade e eficácia (ANVISA, 2020).

Portanto, o presente estudo justifica-se pela necessidade urgente de investigar alternativas terapêuticas que possam contribuir para o enfrentamento da resistência bacteriana. O extrato de *B. gaudichaudii* se apresenta como uma opção promissora devido à sua comprovada atividade antimicrobiana, especialmente contra patógenos multirresistentes, podendo representar uma solução viável para o desenvolvimento de novos antibióticos naturais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Preparação do extrato

As partes da planta foram adquiridas comercialmente (Dermapelle). Posteriormente, a extração se iniciou pela técnica de maceração, onde foi misturado 400 mL de uma solução hidroalcolica 70% (280 mL de etanol P.A + 120 mL de H₂O destilada) e 100 g do extrato da raiz. Essa mistura ficou em descanso por 7 dias em frasco protegido da luz. Após os 7 dias, o extrato foi filtrado e o sobrenadante rotaevaporado em rotaevaporador com pressão reduzida (Menezes *et al.*, 2021)

Cepas bacterianas e solução estoque

A solução estoque dos compostos foi preparada pela dissolução do composto em água destilada estéril a 50 mg/mL. Os microrganismos analisados foram representativos dos isolados de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Escherichia coli* (ATCC 13486), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Candida auris* (B11220), armazenados em caldo BHI + 20% de glicerol a 80°C no

Laboratório de Microbiologia Molecular da Universidade Franciscana - UFN. Estas foram reativadas após inoculação em caldo BHI (Himedia®) e ágar Nutriente (Himedia®) para bactérias e caldo Sabouraud (Himedia®) e ágar Sabouraud (Himedia®) para leveduras, com posterior incubação por 24 horas a 35 ± 2 °C. Da cultura pura, 2-3 colônias foram coletadas e ressuspensas em 5 mL de solução salina estéril para preparação do inóculo bacteriano em escala de *McFarland* 0,5 ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) usando um densitômetro.

Método de difusão em poços

Para a avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* foi empregado o método de difusão em poços em ágar contra os microrganismos citados, onde as respectivas cepas foram coletadas em swabs (cotonetes estéreis) em ágar Mueller-Hinton (Himedia®). Poços de ágar (5 mm de diâmetro) foram feitos em cada placa usando pontas estéreis e preenchidos com o composto (100 µL), as placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas e a zona de inibição foi medida e calculada. Todos os ensaios foram feitos em triplicata (Shijila Rani *et al.*, 2021).

Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Uma suspensão do composto foi feita em água estéril (50 mg/mL). A CIM do composto foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, de acordo com BRCast, 2024. Placas de microtitulação de 96 poços foram usadas, onde 100 µL de caldo Muller Hinton (MHB, Himedia®) foram primeiro adicionados a todos os poços. Em seguida, a solução estoque do composto foi diluída transferindo 100 µL de uma coluna da placa para as outras, sucessivamente ($25 - 0,35$ mg/mL). Em seguida, 15 µL de inóculo bacteriano foram adicionados a todos os poços da placa, exceto para o controle negativo, então as placas foram incubadas a 35 ± 2 °C por 24 horas em câmara úmida. Os controles positivo e negativo foram representados por poços contendo apenas inóculo bacteriano e meio de cultura, respectivamente, com todas as análises realizadas em triplicata. No final do período de incubação, 20 µL de uma solução de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio brometo, 5 mg/mL) foram adicionados a todos os poços da placa de microdiluição, então incubados por 3 horas a 35 ± 2 °C. O desenvolvimento de coloração roxa nos poços indicou crescimento bacteriano, e sua ausência indicou inibição bacteriana. A concentração correspondente ao primeiro poço onde não houve coloração representou a MIC do composto. Os poços também foram verificados visualmente quanto à turbidez do meio, quando os poços permaneceram incolores após a incubação com MTT.

Concentração Bactericida Mínima (MBC)

Após a incubação das placas de microdiluição, os poços foram enriquecidos usando um replicador *Scienceware*® de 96 poços (Merck), transferindo 10 µL de cada poço para placas de Petri contendo ágar Muller-Hinton (MH, Himedia®), que foram incubadas a 35 ± 2 °C por 24 horas. Após esse tempo, a formação de manchas bacterianas nas placas foi analisada, e a concentração correspondente à primeira mancha onde não houve crescimento representou a CBM.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com a metodologia utilizada indicaram que não foi observada qualquer concentração mínima inibitória (CIM) e concentração mínima bactericida (CBM) para o composto avaliado, evidenciando a ausência de atividade antimicrobiana nas condições experimentais. A concentração de 50 mg/mL testada não foi capaz de inibir o crescimento bacteriano ou fúngico, como evidenciado pela ausência de zonas de inibição, representado na imagem 1, mesmo após a incubação com o composto. Esses achados indicam que, na concentração e nas condições de teste aplicadas, o composto não apresentou efeito antimicrobiano e antifúngico mesmo que tenha sido utilizada a maior concentração do extrato.

IMAGEM 1. ENSAIO DE DISCO-DIFUSÃO EM POÇO.

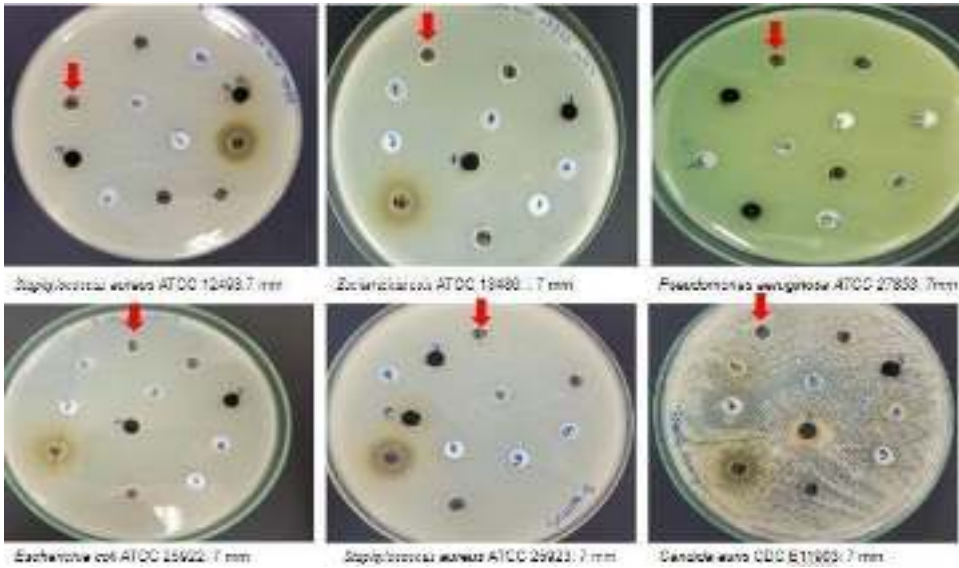


IMAGEM 2. CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MINIMA

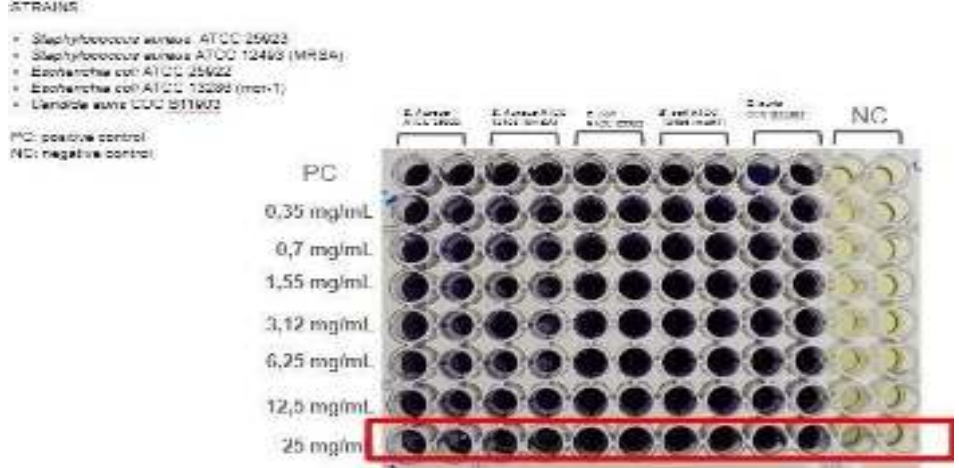
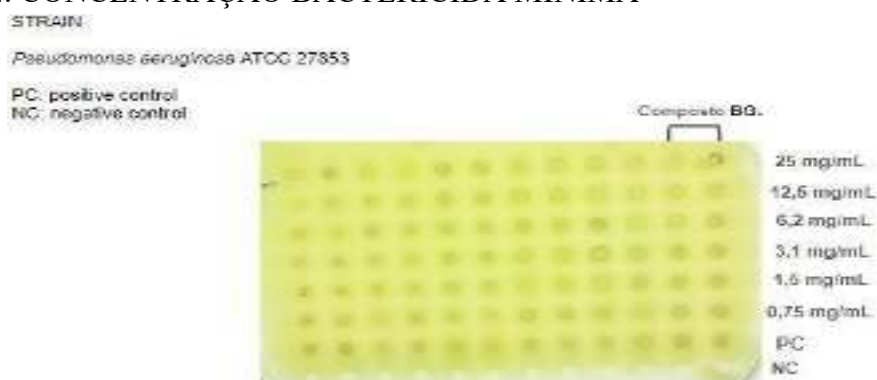


IMAGEM 3. CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MINIMA DE *Pseudomonas aeruginosa*.



IMAGEM 4. CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA



A metodologia empregada no estudo de Joelma *et al.* (2016), foi bem estruturada para avaliar a atividade antimicrobiana do extrato da casca e das folhas de *B. gaudichaudii* contra cepas clínicas e de referência, da mesma forma do atual estudo. O ensaio de difusão em disco permitiu a classificação da sensibilidade bacteriana, enquanto a determinação da CIM forneceu informações quantitativas sobre a eficácia do extrato. Os resultados mostraram que a casca da planta apresentou maior atividade antimicrobiana em comparação com as folhas, com destaque para sua ação contra *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Além disso, a sinergia entre os extratos reforça seu potencial como fonte de novos compostos antibacterianos, o que pode ser promissor para o desenvolvimento de alternativas terapêuticas no combate à resistência bacteriana.

Em contrapartida, um estudo de Gilmar *et al.* (2019) avaliou a atividade antifúngica do extrato de *B. gaudichaudii* Trécul contra *Candida albicans*, utilizando ensaios padronizados de macrodiluição e disco de difusão da mesma forma que este estudo. Apesar do rigor metodológico, o extrato etanólico não apresentou efeito inibitório em nenhuma das concentrações testadas. No entanto, Silva *et al.* (2012) observaram atividade antifúngica contra *Candida* apenas na maior concentração de 200 mg/mL, com halos de até 11 mm, enquanto para *C. não albicans*, a inibição ocorreu a partir de 100 mg/mL. Esses achados sugerem que a atividade antifúngica pode ser dependente da concentração do extrato, exigindo novas investigações para otimizar sua aplicação.

Tabela 1. Ensaios de Difusão em disco, Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima.

Microrganismos	Disco difusão	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	7 mm	> 25	> 25
<i>Escherichia coli</i> ATCC13846	7 mm	> 25	> 25
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	7 mm	> 25	> 25
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC12493	7 mm	> 25	> 25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	7 mm	> 25	> 25
<i>Candida auris</i> CDC B11903	7 mm	> 25	> 25

4 CONCLUSÃO

Em conclusão, os resultados obtidos neste estudo não evidenciaram atividade antimicrobiana ou antifúngica do extrato de *B. gaudichaudii* nas condições e concentrações testadas. A concentração de 50 mg/mL não foi suficiente para inibir o crescimento das cepas bacterianas e fúngicas avaliadas, confirmando a ausência de efeito antimicrobiano ou antifúngico. Embora os resultados não tenham demonstrado a eficácia do extrato sob as condições atuais, é importante destacar que a atividade antimicrobiana de extratos vegetais pode ser dependente de fatores como concentração, método de extração e tipo de composto

bioativo presente. Estudos anteriores indicaram que, em concentrações mais altas, como 200 mg/mL, o extrato pode apresentar alguma atividade antifúngica, o que sugere que ajustes nas condições experimentais e novas abordagens metodológicas podem ser necessários para explorar o potencial terapêutico da planta. O estudo ainda contribui para a compreensão das propriedades do *B. gaudichaudii* e reforça a importância de investigações mais profundas para otimizar o uso de fitoterápicos no combate à resistência bacteriana, sendo uma alternativa promissora, mas que demanda mais pesquisas para garantir sua eficácia.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, T. A. S. *et al.* Phytochemical, antioxidant and cytotoxic analysis of Brazilian Cerrado plants: preliminary evidence of their antitumor activity. **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 9, p. 310-319, 2015.
- BEDNARCZUK, V. O. *et al.* Testes in vitro utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão Acadêmica**, v. 11, n. 2, p. 44, jul.-dez. 2010.
- BORGES, J. C. **Atividade antimicrobiana de extrato de *Brosimum gaudichaudii* Tréc. contra bactérias isoladas de lesões de pés diabéticos.** 2016. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Universidade Federal do Tocantins, Palmas, TO, Brasil, 2016.
- BORGES, J.C. *et al.* Evaluation of antibacterial activity of the bark and leaf extracts of *Brosimum gaudichaudii* Trécul against multidrug resistant strains. **Natural Product Research**, v. 31, n. 24, p. 2931-2935, 2017. doi:10.1080/14786419.2017.1305379
- BRCAST. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Teste de sensibilidade aos antimicrobianos. **Método de disco-difusão BrCAST-EUCAST**. 2024.
- KOH, M. J.; MOK, Z. R.; CHONG, W. S. Phototherapy for the treatment of vitiligo in Asian children. **Pediatric Dermatology**, v. 32, n. 2, p. 192-197, 2015.
- LEÃO, A. R. *et al.* Avaliação clínica toxicológica preliminar do Viticromin® em pacientes com vitiligo. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n. 1, p. 5-23, 2005.
- MENEZES, A. C. P. *et al.* Estudo físico-químico, fitoquímico e atividades biológicas do extrato do fruto maduro de *Brosimum gaudichaudii* (Moraceae). **Scientific Electronic Archives**, v. 14, n. 7, p. 74-83, 2021. DOI: 10.36560/14720211309.
- MONTEIRO, R. F. S. *et al.* O uso indiscriminado de antimicrobianos para o desenvolvimento de micro-organismos resistentes. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, n. 53, p. 1-10, 2020.
- RIBEIRO, L. H. L. Análise dos programas de plantas medicinais e fitoterápicos no Sistema Único de Saúde (SUS) sob a perspectiva territorial. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 24, n. 5, p. 1733-1742, 2019.
- SHIJILA RANI, A. S. *et al.* **Chapter 21 - Prospective Approaches of Pseudonocardia alaniiphila Hydrobionts for Litopenaeus vannamei.** In: DHANASEKARAN, Dharumadurai; SANKARANARAYANAN, Alwarappan (Eds.). *Advances in Probiotics*. Academic Press, 2021. p. 327-348.

SILVA, G. A. *et al.* **Avaliação da capacidade antifúngica de *Brosimum gaudichaudii* Trécul sobre *Candida albicans***. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Biomedicina) – Faculdade Evangélica de Ceres (FECER), Repositório Institucional AEE, Ceres, 2019.

SILVA, L. O. P.; NOGUEIRA, J. M. R. Resistência bacteriana: potencial de plantas medicinais como alternativa para antimicrobianos. **Revista Brasileira de Análises Clínicas - RBAC**, v. 53, n. 1, 2021.

SILVA, S. M. F. Q. E. *et al.* Atividade in vitro de extratos brutos de duas espécies vegetais do cerrado sobre leveduras do gênero *Candida*. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 17, n. 6, p. 1649–1656, 2012.

SOARES, A. V. A.; MELO, K. C. C.; SOUTO, R. N. Conhecimento tradicional e a biodiversidade brasileira: estratégia nacional de proteção intelectual. **E-Tech: Tecnologias para Competitividade Industrial**, v. 14, n. 1, p. 75-88, 2021.

SUMOREK-WIADRO, J. *et al.* **Furanocoumarins in anticancer therapy – For and against. Fitoterapia**, v. 142, 104492, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104492>.