



ÓLEO ESSENCIAL DE *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS* RADDIA: ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E AÇÃO COMBINADA COM OXACILINA E VANCOMICINA

Talita Neves Santos (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Yasmin Eiko Narimatsu, Regiane Bertin de Lima Scodro, Katiany Rizzieri Caleffi-Ferracioli, Silvana Gozzi Pereira Lima, Diógenes Aparício Garcia Cortez, Vera Lucia Dias Siqueira (Orientador), e-mail: vldsiqueira@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Saúde/Maringá, PR.

Microbiologia – Microbiologia Médica

Palavras-chave: *Schinus terebinthifolius* Raddia, atividade antimicrobiana, IRAS.

Resumo:

Isolados clínicos de *Staphylococcus* spp. e *Enterococcus* spp. multirresistentes aos antimicrobianos constituem um desafio para a terapêutica das infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS). O constante aparecimento de mecanismos de resistência tem estimulado a busca por novas alternativas terapêuticas, inclusive as de origem vegetal. *Schinus terebinthifolius* Raddia é conhecida popularmente no Brasil como pimenta rosa, em cujo óleo essencial (OE) já foi possível comprovar diversas propriedades farmacológicas, dentre elas, destaca-se as propriedades antimicrobianas. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade antibacteriana do OE extraído dos frutos da *S. terebinthifolius* Raddia, bem como sua ação combinada com oxacilina ou vancomicina, frente a cepas padrões e isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*. Os métodos de microdiluição em caldo e microtitulação em placa por *checkerboard* foram empregados para avaliar a concentração inibitória mínima (CIM) e a ação combinada dos compostos, respectivamente. O OE apresentou atividade inibitória com uma CIM = 1250 µg/ml para todos os isolados bacterianos testados. A ação combinada do OE





com vancomicina ou oxacilina foi sinérgica para a inibição do crescimento de alguns micro-organismos testados, inclusive para isolados multirresistentes de *S. aureus* (MRSA) e *E. faecalis* (VRE).

Introdução

Infecções bacterianas, em especial as relacionadas à assistência à saúde (IRAS), têm se tornado um problema de saúde pública. Diversas espécies de cocos Gram positivos podem adquirir importantes mecanismos de resistência antibacteriana e desta forma, estão mais comumente associados às IRAS. O aparecimento de isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina ou oxacilina, conhecidos como MRSA e *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina (VRE) vêm estimulando a busca por novas alternativas terapêuticas (BRADLEY, 2013).

Atualmente, diversos estudos têm sido realizados a fim de avaliar as propriedades terapêuticas da espécie vegetal *Schinus terebinthifolius* Raddi, conhecida popularmente no Brasil como pimenta rosa. Através destes, já foi possível comprovar diversas propriedades farmacológicas, dentre elas, destaca-se as propriedades antimicrobianas presentes no extrato e óleo essencial da planta (SILVA et al., 2010).

Materiais e métodos

Compostos testados

O OE dos frutos de *Schinus terebinthifolius* foi obtido pelo método de destilação por arraste a vapor com coação em aparelho tipo Clevenger modificado. Os antimicrobianos testados foram Oxacilina e Vancomicina (Sigma Aldrich, Steinheim, Germany).

Amostras bacterianas

Foram selecionados cocos Gram positivos pertencentes aos gêneros *Staphylococcus* spp. e *Enterococcus* spp. isolados de pacientes atendidos pelo Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC) e estocados no setor de bacteriologia Médica-LEPAC, da Universidade Estadual de Maringá. *S. aureus* ATCC 29213 e *E. faecalis* ATCC 29212 foram utilizadas como amostras controles.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)





As CIMs do óleo essencial, oxacilina e vancomicina foram determinadas pelo método de microdiluição em caldo usando MHB com ajuste de cátions (CAMHB, Difco Laboratories, Sparks, MD, EUA) segundo recomendação do CLSI (2015).

Avaliação do Sinergismo por Checkerboard

Avaliação da ação combinada entre o óleo essencial e os antimicrobianos oxacilina ou vancomicina foi realizada empregando o ensaio de microtitulação em placa por checkerboard com CAMHB (Pillai et al., 2005). Os compostos foram testados em concentração 2x acima e 2x abaixo da CIM de cada um isoladamente. O índice de concentração da fração inibitória (FICI) foi calculado pela seguinte fórmula: $FIC_A + FIC_B = FICI$, onde FIC_A = CIM do composto A em combinação/CIM do composto A sozinho, e a FIC_B = CIM do composto B em combinação/CIM do composto B sozinho. Sinergismo será definido quando o FICI for ≤ 0.5 , indiferente quando o FICI for $> 0.5 \leq 4$ e antagonismo quando o FICI for > 4 (Pillai et al 2005).

Resultados e Discussão

Os resultados referentes ao potencial antimicrobiano do OE dos frutos de *S. terebinthifolius* Raddi foram descritos na tabela 1.

Tabela 1: Resultado das Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) e dos índices de concentração da fração inibitória (FICI) do óleo essencial, vancomicina e oxacilina para isolados clínicos (IC) e cepas-padrão (ATCC) de *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*.

ISOLADO	CIM ($\mu\text{g/ml}$)			CHECKERBOARD			
	V	O	O.E.	FICI O.E.+V	INTERPRETAÇÃO	FICI O.E.+O	INTERPRETAÇÃO
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	1,95	0,97	1250	2	I	2	I
<i>S. aureus</i> - IC 1 MRSA	0,97	125	1250	2	I	0,078	S
<i>S. aureus</i> - IC 2 MRSA	0,97	>125	1250	0,62	I	0,03	S
<i>S. aureus</i> IC 3 – 25923	0,97	0,24	1250	0,373	S	1	I
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	1,95	7,8	1250	2	I	1,5	I
<i>E. faecalis</i> – IC 1 VRE	>125	>125	1250	0,5	S	0,25	S
<i>E. faecalis</i> – IC 2	0,48	7,8	1250	0,75	I	0,375	S
<i>E. faecalis</i> – IC 3	0,48	0,98	1250	1	I	1	I

V=vancomicina; O=oxacilina; O.E.= óleo essencial das folhas de *Schinus terebinthifolius*; I= indiferente; S=sinergismo





O potencial antimicrobiano do OE de pimenta rosa apresentou uma CIM de 1250 µg/mL para todas as cepas testadas. Quando em associação com os antibióticos vancomicina e oxacilina houve sinergismo significativo para 2 e 4 cepas de isolados clínicos, respectivamente.

Conclusões

Embora o OE de *S. terebinthifolius* isoladamente apresentou fraca atividade antibacteriana sobre *S. aureus* e *E. faecalis*, sua ação combinada com vancomicina ou oxacilina mostrou-se relevante para a inibição do crescimento destas espécies bacterianas, inclusive isolados clínicos multirresistentes. Dessa forma, o OE testado em associação com esses antibióticos pode representar uma alternativa de interesse clínico para contornar mecanismos de resistência.

Agradecimentos

À Fundação Araucária, CAPES e CNPq pelo auxílio financeiro.

Referências

BRADLEY, J.S. Which antibiotic for resistant Gram positives, and why? **J. Infect.**, v. 68, p. S63eS75, 2014.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition.** CLSI document M07-A10. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2015.

PILLAI, S.K, MOELLERING JR, R.C.; ELIOPOULOS, G.M. Antimicrobial Combinations,. *In* Lorian V. (ed.), **Antibiotics in Laboratory Medicine**, Fifth edition ed. Lippincott Williams & Wilkins: New York, p. 365-440, 2005

SILVA, A.B., et al., Antibacterial activity, chemical composition, and cytotoxicity of leaf's essential oil From Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Braz J Microbiol.**, v. 41, p. 158-163, 2010.

