

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E MODULADORA DA RESISTÊNCIA A DROGAS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *ROSMARINUS OFFICINALIS* L.

Idglan Sá de Lima (bolsista do ICV/UFPI), Edeltrudes de Oliveira Lima (Colaboradora - UFPB) Henrique Douglas Melo Coutinho (Colaborador, URCA) Juciane Vaz Rego (Co-orientadora, CAFS - UFPI), Humberto Medeiros Barreto (Orientador, CAFS - UFPI)

INTRODUÇÃO

Rosmarinus officinalis L. (Lamiaceae), comumente conhecida como rosemary, é uma erva cultivada mundialmente, sendo utilizada na medicina popular, cosméticos e fitocosméticos. Esta planta apresenta atividade quimioprotetora, antiulcerogênica e antioxidante, sendo também ativa contra diversos microrganismos patogênicos. A análise da composição química do óleo essencial de *R. officinalis* L. (OER) tem mostrado que os terpenos, entre eles cânfora, 1,8-cineol, α -pineno, canfeno, α -terpineol e borneol são os seus constituintes majoritários. No presente estudo, foi avaliada a atividade antimicrobiana direta do OER, sua atividade moduladora da resistência aos antibióticos aminoglicosídeos contra linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* multiresistentes, bem como a sua atividade antimicrobiana em associação com políenios e nitroimidazóis contra espécies de *Candida*.

METODOLOGIA

Foram utilizadas duas linhagens de bactérias multiresistentes isoladas de amostras clínicas (*Staphylococcus aureus* SA358 e *Escherichia coli* EC27), bem como duas cepas padrão de leveduras (*Candida albicans* ICB12 e *Candida krusei* ATCC 6538). As cepas padrão foram obtidas através do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), Ministério da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, e os isolados clínicos, da Universidade Federal da Paraíba, UFPB. O OER foi obtido da indústria Ferquima Ltda, Brasil, e seus principais componentes encontrados foram o alfa-pineno (13,0%), 1,8-cineol, limoneno, p-cimeno (47%) e cânfora (10%). Os antibióticos neomicina, gentamicina, amicacina, metronidazol, benzoilmetronidazol, nistatina e anfotericina B foram obtidos da Sigma Chemical Corp, St. Louis, MO, EUA. Todas as drogas foram dissolvidas em água esterilizada. A solução-estoque da substância-teste foi preparada pela dissolução de 10 mg do composto em 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO - MERCK), iniciando com uma concentração inicial de 10 mg/mL. A solução resultante foi diluída para 1.024 mg/mL em água estéril. A concentração inibitória mínima (MIC) do OER foi determinada pelo ensaio de microdiluição em caldo BHI com suspensões de 10^5 UFC/mL e concentrações de óleo essencial, variando de 8 a 1.024 μ g/mL. A MIC foi definida como a menor concentração da droga em que não foi observado o crescimento de microrganismos. Na avaliação do efeito modulatório da resistência a drogas da substância-teste, as MICs dos antibióticos foram determinadas na presença de OER em concentrações sub-inibitórias (MIC/8), e em seguida as placas foram incubadas a 37° C por 24 h.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O OER não apresentou atividade antimicrobiana nas concentrações clinicamente relevantes testadas contra as linhagens de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Candida krusei*.

Na verificação da atividade moduladora da resistência microbiana o OER mostrou não afetar a atividade antibacteriana dos antibióticos aminoglicosídeos, quando testados contra a cepa multiresistente de *S. aureus*. No entanto, reduziu a MIC de todos os aminoglicosídeos testados contra a cepa de *E. coli* multiresistente. Os principais mecanismos de resistência a essas drogas são a inativação enzimática e o efluxo ativo (Morar e Wright, 2010) e tem sido sugerido que certos produtos de plantas podem potencializar a atividade dos aminoglicosídeos contra *E.coli* multiresistente, possivelmente por interferência em sistemas de efluxo. No entanto, a resistência intrínseca das bactérias Gram-negativas é devido tanto à capacidade de extrusão do antibiótico quanto a presença da membrana externa que atua como uma barreira impermeável a vários agentes antimicrobianos (Nikaido, 2009).

Uma importante característica dos terpenos é que estes compostos são altamente lipofílicos, o que os tornam capazes de atravessar a membrana externa e interagir com proteínas de efluxo (Oluwatuyi, 2004). Depois de atravessar a membrana externa, acredita-se que os terpenos oxigenados presentes no OER se acumulam na membrana citoplasmática bacteriana, causando a perda de sua integridade, permeabilidade aumentada, perda de conteúdo citoplasmático, a dissipação da força próton-motriz, a lise celular e morte (Sikkema, 1995). Assim, é possível que a intercalação de terpenos na membrana citoplasmática tenha exercido esses efeitos, causando a morte celular, seja por lise osmótica direta, por facilitação da assimilação dos antibióticos ou por inibição da extrusão dos antibióticos por um sistema de efluxo, levando à redução da MIC dos aminoglicosídeos testados contra a cepa de *E. coli* multiresistente (Bolla *et al*, 2011).

Quando testado em combinação com os polienos contra a cepa *C. krusei* observou-se que o OER antagonizou a atividade de anfotericina B, porém não afetou a atividade da nistatina. Estes compostos se ligam ao ergosterol para formar canais artificiais que aumentam a permeabilidade da membrana citoplasmática, no entanto, devido às diferenças estruturais entre eles, a nistatina tem uma menor capacidade de ligação (Brajtburg, 1990). É provável que a intercalação dos componentes do OER interfira com a ligação da anfotericina B ao ergosterol, produzindo o efeito antagônico observado e que as diferenças na estrutura desses dois polienos poderiam explicar a falta de atividade modulatória contra a nistatina.

Antibióticos nitroimidazólicos como metronidazol e benzoilmetronidazol, se intercalam na molécula de DNA, interferindo nos processos de replicação e transcrição, interrompendo a produção de proteínas estruturais e enzimas necessárias ao metabolismo celular, apresentando atividade contra os protozoários, helmintos e certas bactérias anaeróbicas *in vitro*. Em nosso estudo, o OER

sensibilizou a linhagem de *C. krusei* ao benzoilmetronidazol, o que pode ter sido uma consequência do aumento da permeabilidade da membrana causada por componentes do óleo, permitindo a entrada deste antibiótico na célula fúngica.

CONCLUSOES

Os resultados mostram o elevado potencial farmacológico da OER como um agente modificador da resistência aos antibióticos e enfatizam a necessidade de mais estudos para avaliar a atividade moduladora de outros óleos essenciais e seus fitoquímicos, com a finalidade de buscar novas alternativas para o tratamento de infecções causadas por microorganismos multirresistentes.

REFERÊNCIAS

1. BOLLA J.-M., ALIBERT-FRANCO S., HANDZLIK J., CHEVALIER J., MAHAMOUD A., BOYER G., KIÉC-KONONOWICZ K. and PAGÈS J. –M.. Strategies for bypassing the membrane barrier in multidrug resistant Gram-negative bacteria. *FEBS Letters*, v.585, p.1682-1690, 2011.
2. BRAJTBURG J., POWDERLY W.G., KOBAYASHI G. AND Medoff G.. Amphotericin B: current understanding of mechanisms of action. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.34, p.183-188, 1990.
3. NIKAIDO H., Multidrug resistance in bacteria. *Annu Rev Biochem*, v.78, p.119-146, 2009.
4. MORAR M. and WRIGHT G.D.. The genomic enzymology of antibiotic resistance. *Annu Rev Genet*, v.44, p25–51, 2010.
5. OLUWATUYI M., KAATZ G.W. AND GIBBONS S.. Antibacterial and resistance modifying activity of *Rosmarinus officinalis*. *Phytochem*, v.65, p.3249-3254 2004.
6. SIKKEMA J., DE BONT J.A. AND POOLMAN B.. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiol Rev*, v.59, p.201-222, 1995.

Palavras-chave: Atividade microbiana, *Rosmarinus officinalis* L., Produtos naturais.