

ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E MODULADORA DA RESISTÊNCIA A DROGAS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *LIPPIA ORIGANOIDES* H.B.K.

Idglan Sá De Lima (bolsista do ICV/CAFS - UFPI), Antônia Maria das Graças Lopes Citó (CCN, UFPI), José Arimatéia Dantas Lopes (CCN, UFPI), Humberto Medeiros Barreto (Orientador, CAFS - UFPI)

INTRODUÇÃO

O gênero *Lippia*, pertencente a família Verbenaceae, compreende várias espécies de plantas de ocorrência em áreas tropicais da África, América Central e América do Sul. Infusões de suas folhas, partes aéreas e flores são tradicionalmente utilizadas no tratamento de distúrbios do trato respiratório, trato gastrointestinal e da pele (CARTAXO *et al.*, 2010). Trabalhos realizados com óleos essenciais de espécies deste gênero têm demonstrado importantes propriedades farmacológicas tais como atividade antibacteriana, antifúngica e antiparasitária (BOTELHO *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2007).

No presente estudo, foi avaliada a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K. (OELO), em linhagens de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* multiresistentes, cepas padrão das respectivas espécies bacterianas, bem como em cepas padrão de leveduras. Também foi avaliada a atividade moduladora da resistência aos antibióticos aminoglicosídeos, fluorquinolonas e tetraciclina contra linhagens de *S. aureus* e *E. coli* multiresistentes a drogas.

METODOLOGIA

Foram utilizadas 29 linhagens de bactérias multiresistentes isoladas de amostras clínicas, sendo 10 da espécie *Escherichia coli*, 9 da espécie *Pseudomonas aeruginosa* e 10 da espécie *Staphylococcus aureus*. Também foram realizados bioensaios com as cepas padrão bem como duas cepas padrão *Escherichia coli* ATCC 10.536, *Staphylococcus aureus* ATCC 13.115 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25.619. A atividade antifúngica da fração PMCC-AceOEt foi também testada nas cepas *Candida albicans* ICB12 e *Candida krusei* ATCC 6538.

Uma 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 (CIM) do PMCC-AcOEt foi determinada pelo ensaio de microdiluição em caldo BHI

com suspensões de 105 UFC/mL e concentrações de óleo essencial, variando de 8 a 1.024 µg/mL (Javadpour *et al.*, 1996). A CIM 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 CIMs dos antibióticos foram determinadas na presença de PMCC-AcOEt em concentrações sub-inibitórias (MIC/8), e em seguida as placas foram incubadas a 37° C por 24 h.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O OELO apresenta atividade antimicrobiana nas concentrações clinicamente relevantes testadas, com valores de CIM variando de 128 a 256 µg/mL para as linhagens de *Escherichia coli*, de 256 a 512 µg/mL para as linhagens *Staphylococcus aureus*. A melhor atividade antimicrobiana foi aquela apresentada contra a linhagem de *C. krusei* (CIM igual a 32 µg/mL). Estes resultados estão de acordo com Oliveira *et al.* (2007), que também evidenciaram atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia Origanoides* contra cepas de *S. aureus* e *C. albicans*, através do método de difusão em agar.

Os resultados dos ensaios de modulação da resistência a drogas demonstraram que o OELO foi capaz de modular a resistência bacteriana aos antibióticos contra as duas cepas testadas EC27 e SA358. No caso da cepa EC27, o OELO apresentou sinergismo com a gentamicina e com a norfloxacin, provocando mudança do fenótipo de resistência desta cepa aos referidos antibióticos. Além disto, o OELO apresentou atividade moduladora da resistência quando associado com a amicacina (redução da CIM de 9,8 para ≤1,2 µg/mL) e com a neomicina (redução da CIM de 78,1 para ≤1,2 µg/mL). Os efeitos sinérgicos observados entre o OELO e os antibióticos amicacina e gentamicina, provavelmente estão relacionados com a inibição de mecanismos de resistência mediado por bomba de efluxo, uma vez que um efeito similar foi também observado quando a cepa EC27 foi desafiada com a Clorpromazina, um inibidor específico de bombas de efluxo, em associação com tais antibióticos (Bolla *et al.*, 2011). No caso da cepa SA358, o OELO apresentou um efeito sinérgico quando associado com a neomicina, amicacina e gentamicina, provocando redução da CIM e mudança do fenótipo de resistência a gentamicina.

CONCLUSOES

Os resultados mostraram que o OELO apresentou atividade antimicrobiana direta contra as espécies de *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *C. albicans* e *C. krusei*. Os ensaios de modulação da resistência aos antibióticos revelaram que este produto foi capaz de modular a resistência a amicacina, gentamicina, neomicina e norfloxacin, inclusive promovendo a reversão do fenótipo de resistência da *Escherichia coli* EC27 a estes antibióticos. A resistência da cepa EC27 a gentamicina e a amicacina foi também modulada na presença de clorpromazina, uma droga que atua inibindo

bombas de efluxo, indicando que nesta linhagem, a resistência a tais drogas deve ser mediada por um mecanismo de resistência envolvendo a extrusão dos antibióticos por bombas de efluxo. Nestes casos, é provável que a atividade moduladora da resistência exercida pelo OELO, esteja relacionada com a capacidade de seus componentes químicos inibirem bombas de efluxo. Estes resultados mostram o potencial biotecnológico do óleo essencial de *Lippia Origanoides* H.B.K e enfatizam a necessidade de estudos adicionais para investigar a atividade moduladora da resistência a drogas dos seus fitoquímicos isolados.

REFERÊNCIAS

1. BOTELHO, M.A., NOGUEIRA N.A.P., BASTOS, G.M., FONSECA, S.G.C., LEMOS, T.L.G., MATOS, F.J.A., MONTENEGRO, D., HEUKELBACH, J., RAO, V.S., BRITO, G.A.C. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v.40, p. 449-356, 2007.
2. CARTAXO, S. L., SOUZA, M.M.A., ALBUQUERQUE, U.P. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 131, p. 326-342, 2010.
3. 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.
4. OLIVEIRA, D.R., LEITÃO, G.G., BIZZO, H.R., LOPES, D., ALVIANO, D.S., ALVIANO, C.S., LEITÃO, S.G. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia origanoides* H.B.K. *Food Chemistry*, v. 101, p. 236-240, 2007.
5. OLIVEIRA, F. P.; LIMA, E. O.; SIQUEIRA JUNIOR, J. P.; SOUZA, E. L.; SANTOS, B. H. C.; BARRETO, H. M. Effectiveness of *Lippia sidoides* Cham. (*Verbenaceae*) essential oil in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical material. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 16, p. 510-516, 2006.

Palavras-chave: *Lippia Origanoides* H.B.K. Atividade antimicrobiana. Resistência a drogas.

