

ANÁLISE DO POTENCIAL DE AÇÃO BACTERIOLÍTICO DE ROSMARINUS OFFICINALIS FRENTE AS CEPAS GRAM POSITIVAS E GRAM NEGATIVAS

Gildemar José Bezerra Crispim – Faculdade Anhanguera de Brasília

Juliana Foggiatto – Faculdade Anhanguera de Brasília

RESUMO: O alecrim, cientificamente chamado de *Rosmarinus officinalis*, é uma planta muito popular no Brasil e no mundo. Diante do alarmante quadro de bactérias multiresistentes, principalmente nosocomiais, busca-se desenvolver um antimicrobiano sensível às cepas que mais acometem infecções em humanos. Por se tratar de um extrato natural, busca-se também, reduzir seu custo de produção, e suas reações adversas, para que essas sejam mais brandas, ao contrário dos antimicrobianos sintéticos atualmente em uso. O objetivo deste estudo consiste em analisar a sensibilidade de cinco diferentes cepas de bactérias quando em contato com o extrato aquoso de alecrim, em cinco diferentes concentrações. A partir deste trabalho foi possível analisar a ação do potencial bacteriolítico frente às cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Enterococcus sp.* ATCC 202155, *Salmonella sp.* ATCC 14028, e *Klebsiella sp.* ATCC 13883. Concordando com estudos anteriores, o *Staphylococcus aureus*, ATCC 29213, se mostrou sensível ao extrato aquoso de alecrim, na concentração de 5%, formando um halo de inibição de 12 milímetros.

ABSTRACT: Rosemary, *Rosmarinus officinalis* scientifically called, is a very popular plant in Brazil and worldwide. Given the alarming picture of bacteria multiresistentes primarily nosocomial, seeks to develop a sensitive microbial strains that most affect human infections. Because it is a natural extract, also seeks to reduce its cost of production, and its adverse effects, so these are milder; unlike synthetic antimicrobials currently in use. The aim of this study is to examine the sensitivity of five different strains of bacteria when in contact with the aqueous extract of rosemary, five different concentrations. From this work it was possible to analyze the potential bacteriolytic action against the strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Enterococcus sp.* ATCC 202155, *Salmonella sp.* ATCC 14028 and *Klebsiella sp.* ATCC 13883. In agreement with previous studies, *Staphylococcus aureus*, ATCC 29213, was sensitive to aqueous extract of rosemary at 5% concentration, forming an inhibition zone of 12 milímetros.

PALAVRAS-CHAVE:

Rosmarinus officinalis; bactérias multiresistentes; *Staphylococcus aureus*; *Streptococcus pyogenes*; *Enterococcus sp.*; *Salmonella sp.*; *Klebsiella sp.*

KEYWORDS:

Rosmarinus officinalis; multiresistant bacteria, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus sp.*, *Salmonella sp.*, *Klebsiella sp.*

Informe Técnico

Recebido em: 07/05/2014

Avaliado em: 04/06/2014

Publicado em: 05/12/2014

Publicação

Anhanguera Educacional Ltda.

Coordenação

Instituto de Pesquisas Aplicadas e Desenvolvimento Educacional - IPADE

Correspondência

Sistema Anhanguera de Revistas Eletrônicas - SARE
rc.ipade@anhanguera.com

1. INTRODUÇÃO

Atualmente é crescente a procura por terapias alternativas com plantas medicinais na prevenção, tratamento e cura de muitas doenças. Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), na década de 90, mais de 65% da população mundial residente em países desenvolvidos, usam plantas medicinais para tratamento básico de saúde. Existe também, por parte dos profissionais da área da saúde, a necessidade de estudos que busquem desenvolver novos antimicrobianos através de plantas medicinais, levando-se em consideração, o uso inadequado dos antimicrobianos químicos sintéticos, o que os torna cada vez menos eficazes (RIBEIRO et al., 2012).

Nas infecções hospitalares, o *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) se mostrou predominante nos quadros de pneumonia associada à ventilação mecânica e septicemia de origem hospitalar. A causa primordial desses óbitos no local hospitalar no Brasil, têm como fatores determinantes o tempo de permanência na Unidade de Terapia Intensiva (UTI), idade do paciente, tipo de comorbidade e a infecção hospitalar (GUIMARÃES et al., 2011).

O *Streptococcus pyogenes* (*S. pyogenes*) possui vários fatores de virulência, dentre eles, a capacidade de colonizar, multiplicar e espalhar-se rapidamente por todo o corpo do hospedeiro evitando a fagocitose. Também produz diferentes adesinas com inúmeras especialidades que permitem a colonização das vias aéreas superiores, o que leva a uma re-infecção latente uma vez que esse patógeno fica aderido na superfície e núcleo das amígdalas (PEREIRA et al., 2008).

O *Enterococcus sp.*, nas últimas duas décadas, apresentou grande preocupação entre os profissionais da saúde, entre muitos fatores, se deve em parte à sua resistência intrínseca aos antimicrobianos comumente utilizados, como aminoglicosídeos, aztreonam, cefalosporinas, clindamicina e oxacilina (ANVISA, 2013).

As patologias causadas pela *Salmonella sp.* são consideradas um dos grandes problemas de saúde pública devido a resistência de várias cepas dessas bactérias frente aos antimicrobianos mais usados atualmente, como se destaca a resistência a tetraciclina, que também é usada como aditivo no alimento animal ajudando significativamente no seu ganho de peso, o que provavelmente resulta na resistência bacteriana de seus consumidores (KLUCZYNIK, et al., 2010).

Entre as bactérias Gram negativas, como a *klebsiella sp.*, um dos principais mecanismos de resistência bacteriana se dá pela produção de betalactamase de espectro estendido (ESBL), enzima que hidrolisa o anel betalactâmico de penicilinas, cefalosforinas e outros, tornando-os inativos. Tais enzimas são mediadas por plasmídeos e são inibidas por compostos como ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam (MARTINS; PICOLI, 2011).

O presente trabalho destacou a cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, que apresentou sensibilidade ao extrato aquoso de alecrim com um halo de inibição de 12 milímetros (mm), na concentração de 5%.

2. METODOLOGIA

Trata-se de um estudo que visa investigar a ação bacteriolítica e/ou bacteriostática do extrato aquoso de *Rosmarinus officinalis* (alecrim), frente às cepas Gram positivas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Enterococcus sp.* ATCC 202155, e as Gram negativas *Salmonella sp.* ATCC 14028 e *Klebsiella sp.* ATCC 13883.

A pesquisa foi realizada no laboratório de Microbiologia e Análises Clínicas da Faculdade Anhanguera de Brasília, com sede em Taguatinga - DF, durante o mês de abril e maio de 2013.

Foram utilizadas cinco cepas de bactérias, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Enterococcus sp.* ATCC 202155, e as Gram negativas *Salmonella sp.* ATCC 14028, e *Klebsiella sp.* ATCC 13883. Tais cepas foram cedidas pelo laboratório de Microbiologia da Universidade de Brasília (UNB). O extrato aquoso de alecrim, na concentração de 80%, foi adquirido em farmácia de manipulação no comércio local. Já o restante dos materiais e insumos foi cedido pela Faculdade Anhanguera de Brasília.

O método utilizado para a realização dos testes de sensibilidade do extrato de alecrim frente às diferentes cepas de bactérias citadas acima, corresponde ao método de difusão em disco. Tal procedimento baseia-se na inibição do crescimento de um determinado microorganismo em meio de cultura adequado onde o mesmo foi inoculado (BAUER; KIRBY; SHERRIS, 1966).

Preparou-se a suspensão bacteriana em tubo de ensaio com turvação equivalente a 0,5 na escala de Mac Farland, que corresponde à escala de turvação de crescimento bacteriano em caldo, usando-se um 1 mililitro (ml) de solução salina a 0,9% de Cloreto de Sódio (NaCl). Com a ajuda de uma Alça de Platina estéril, as cepas foram diluídas nesta solução, conforme a figura a seguir.



Figura 1. Suspensão bacteriana em tubo de ensaio com turvação a 0,5 na escala de Mac Farland.

Em bancada de fluxolaminar vertical, com luz ultravioleta, foram esterilizados, durante 30 minutos, todos os materiais que fora utilizados no experimento, como demonstrado abaixo.

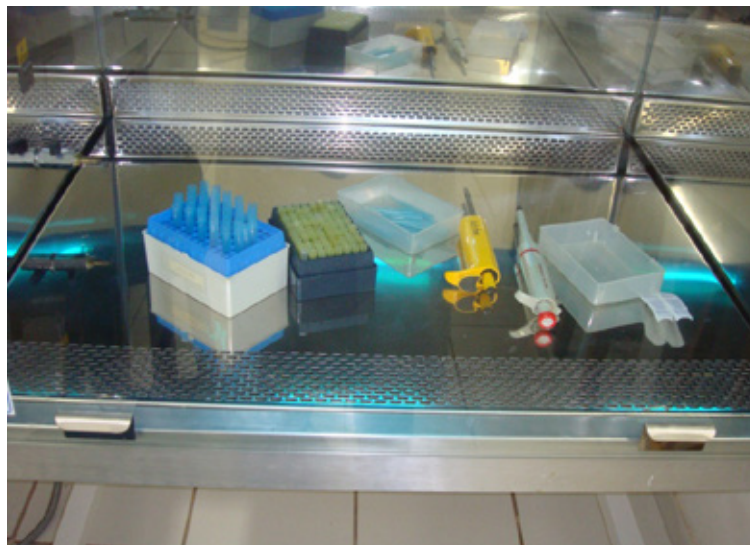


Figura 2. Câmara Fluxolaminar em processo de esterilização dos materiais utilizados no experimento.

A seguir, cada cepa foi inoculada isoladamente em uma placa de Petri estéril, dentro da bancada de fluxolaminar vertical. A placa de Petri continha o meio de cultura sólido Agar *Muller-Hinton*, que oferece condições de crescimento para a grande maioria das bactérias. O semeio foi feito pelo método de *Pour Plate*, onde se inoculou 10 microlitros (ul) de amostra (HUNGRIA; LONGO, 2009).

Com a ajuda de uma pinça estéril, foram aplicados os discos de papel filtro estéril nas placas de Petri contendo o meio de cultura Agar *Muller-Hinton*. Tomou-se o cuidado de colocá-los e pressioná-los levemente para que tivessem um ótimo contato com o meio de cultura. Ao todo foram colocados seis discos em cada placa com a ajuda de agulhas estéreis, e foram inoculados, com ajuda de piteta e ponteira, 10 ul do extrato aquoso de alecrim em cinco concentrações diferentes. Tanto os discos quanto as diferentes concentrações do extrato aquoso de alecrim foram enumerados de 1 a 5, e o "C", colocado no centro da placa, que corresponde ao **Controle**, contendo solução salina a 0,9% de NaCl. Foram feitas cinco diluições, todas aquosas, nas concentrações e respectivos discos a seguir:

- Disco 1 - Extrato aquoso de alecrim a 80%
- Disco 2 - Extrato aquoso de alecrim a 40%
- Disco 3 - Extrato aquoso de alecrim a 20%
- Disco 4 - Extrato aquoso de alecrim a 10%
- Disco 5 - Extrato aquoso de alecrim a 5%

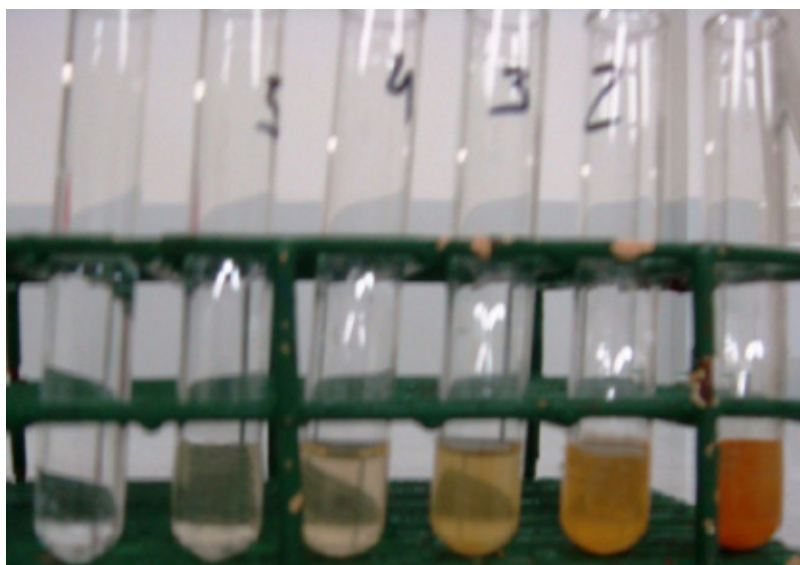


Figura 3. As diferentes concentrações do extrato aquoso de alecrim.

Cada placa de Petri contendo o meio de cultura *Muller-Hinton*, foi identificada a cepa da bactéria correspondente e sua ATCC com caneta dermatográfica, e incubada em estufa a 35 graus Celsius (°C) por 24 horas.

3. DISCUSSÃO

3.1. *ROSMARINUS OFFICINALIS L.*

O *Rosmarinus officinalis Linn*, popularmente conhecido como alecrim, tem origem na região Mediterrânea da Europa e vem sendo cultivado em quase todos os países de clima temperado, principalmente países como a Austrália, Itália, Grécia, Portugal etc. No Brasil é cultivado em praticamente todo o país. Pertence à família *Lamiaceae*, gênero *Rosmarinus* e espécie *R. officinalis*, nomenclatura Binominal *Rosmarinus officinalis L. (Labiatae)* (HENTZ; SANTIN, 2007).

A família *Lamiacea* possui mais de 200 espécies, já descritas na literatura, por possuírem propriedades medicinais. Além do alecrim, têm-se as espécies mais usadas, conhecidas popularmente por erva-cidreira e alfavaca. O alecrim também é usado na indústria cosmética, na forma de sabonetes, shampoos, desodorantes, colônias, e ainda como produto de limpeza na forma de desinfetante. Seu extrato alcoólico é usado como antioxidante na indústria alimentícia (MAY et al., 2010).

Segundo Silva et al. (2011), o extrato de alecrim é conhecido por suas propriedades antioxidantes, conservantes, antitumoral e antimicrobianas, também é muito apreciado na indústria alimentícia pelo seu aroma agradável e picante. Possui três principais grupos de compostos químicos:

- Diterpenos fenólicos,
- Flavonóides,
- Ácidos fenólicos.

Os antimicrobianos feitos com extratos vegetais visam englobar um amplo espectro de ação, associados ao baixo índice de efeitos colaterais e custo de produção bem reduzido comparados com os de produção sintética na indústria farmacêutica (CLEFF et al., 2012).

O alecrim é um arbusto perene, chega a 1,5 metros de altura, aproximadamente, suas folhas são de cor verde azuladas, lineares e coriáceas, de aroma marcante e saboroso. Flores pequenas, azuladas e agrupadas em ramos (ALVES et al., 2008).



Figura 4. Flor e caule do alecrim.

3.2. *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

O *Staphylococcus sp.* pertence à família *Micrococcaceae*, são cocos Gram positivos isolados, em pares ou aglomerados. Caracterizam-se por serem catalase positivo, imóveis e não-esporulados. O *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) pode ser diferenciado de outras espécies de *Staphylococcus sp.* por produzir uma enzima chamada coagulase, o que caracteriza sua colônia com uma pigmentação dourada. A enzima coagulase é produzida apenas pelo *S. aureus*, portanto, serve de base para o diagnóstico diferencial em laboratório (SILVA, 2009).

Esse microorganismo faz parte da microbiota normal da pele e mucosa nasal dos seres humanos, principalmente em profissionais que trabalham em hospitais, portanto, acredita-se que tais profissionais sejam possíveis veiculadores dessa bactéria, uma vez que o *S. aureus* é o principal microorganismo a causar infecções nosocomiais (SILVA et al., 2012).

O *S. aureus* destaca-se por seu alto nível de virulência, atribuídos, principalmente, por suas enterotoxinas termoestáveis, que aumentam facilmente os casos de intoxicações por alimentos. Também destacam-se pelos quadros de bacteremia além de um grande número de outras patologias, através da invasão direta dos tecidos (JERÔNIMO et al., 2011).

As infecções de sítio cirúrgico apontam o *S. aureus* como grande agente etiológico, principalmente o *S. aureus* MRSA (meticilina-resistente), o que demonstra um alto índice de resistência bacteriana aos antimicrobianos sintéticos. A vancomicina ainda é o antibiótico mais eficaz diante dessas infecções; embora já exista na literatura estudos que demonstram um fenótipo da bactéria chamado de Vancomycin - *intermediate Staphylococcus aureus* (VISA), o que representa um risco potencial para o futuro. Já foram relatados pacientes com *S. aureus* heterorresistência à vancomicina, com bacteremia e infecções do sítio cirúrgico, e que evoluíram para óbito (LICHTENFELS et al., 2010; MELO et al., 2009).

O *S. aureus* também tem grande relevância no âmbito alimentar, sendo um dos principais agentes responsáveis pelas toxinfecções alimentares, principalmente os derivados de animais. A sintomatologia dessas infecções caracteriza-se por vômitos, câibras abdominais e diarreia; muitas vezes pode ser confundido com outros patógenos, como o *Bacillus cereus* que apresenta quadro de sintomas semelhante (SANTANA et al., 2010).

A transmissão do *S. aureus* pode ocorrer por meio de contato direto, caracterizado principalmente por mãos contaminadas de profissionais da saúde ou pacientes, ocorre, na maioria das vezes, sem que a bactéria desenvolva alguma patologia relacionada naquele indivíduo, e esse passa a atuar como veículo carreador do patógeno; ou pelo contato indireto, através de superfícies contaminadas (OLIVEIRA; PAULA, 2012).

3.3. STREPTOCOCCUS PYOGENES

O *Streptococcus pyogenes* (*S. pyogenes*) é o principal agente etiológico das faringotonsilites agudas bacterianas. O diagnóstico laboratorial pode ser feito através de cultura da secreção das tonsilas e parede posterior da orofaringe em placa de Petri contendo Agar sangue de carneiro a 5%, tem alta sensibilidade, porém demora até dois dias para obtenção do resultado. Usa-se ainda, um teste antigênico rápido, que consiste na extração de antígenos de *S. pyogenes* coletados com “swabs” na orofaringe. Possui alta sensibilidade e alta especificidade, e obtêm-se os resultados em poucos minutos (BALBINI; MONTOVANI; CARVALHO, 2009).

O *Streptococcus B hemolyticus* do grupo A é um microorganismo aeróbio, Gram positiva que provoca vários tipos de síndromes infecciosas como faringite, impetigo, erisipela, celulite, osteomielite, febre reumática, glomerulonefrite pós-estreptocócica e Síndrome do Choque Tóxico (ANTUNES et al., 2011; FERNANDES; JÚNIOR, 2011).

A Faringoamigdalite, causada, principalmente, pelo *Streptococcus B hemolítico* do grupo A, comumente acomete crianças, jovens e adultos. De fácil disseminação, através de microgotas aerossolizadas ou contato direto, em aglomerados de pessoas como escolas e creches. Os testes rápidos se mostraram, também, muito eficientes na detecção desse microorganismo o que o torna coadjuvante no diagnóstico, evitando o uso inadequado de antibióticos, reduzindo custos e contribuindo para se evitar a resistência bacteriana em relação a estes (FILHO et al., 2006; MORAIS et al., 2012).

Quanto ao tratamento dessas patologias, na maioria dos casos empírico, consiste na antibióticoterapia, associação da Penicilina e seus derivados com inibidores da enzima beta-lactamase, produzida por essa bactéria, como o ácido clavulânico. Em casos especiais é conveniente o uso do fármaco sintético como a Clindamicina, que abrange um amplo espectro de bactérias produtoras de beta-lactamase aeróbias e anaeróbias (BERNARDE, WINGERT, PEREIRA, 2010).

3.4. *ENTEROCOCCUS SP.*

Enterococcus sp. são bactérias Gram positivas, dispostas aos pares ou cadeias, e na coloração de Gram se apresentam na cor violeta; são catalase-negativas e suportam altas temperaturas e alterações de PH. Fazem parte da microbiota do trato gastrointestinal, cavidade oral, vesícula biliar, encontradas com menos frequência no trato genital feminino e uretra masculina. Também podem ser encontradas no solo, água, plantas cruas de raízes e alimentos crus de origem animal. Existem 14 espécies descritas de *Enterococcus sp.*, sendo o *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) e o *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) as duas que normalmente promovem colonização e infecções em humanos (ANVISA, 2013; FRAGA, 2013).

A multirresistência bacteriana trata-se de um problema de saúde pública em todo o mundo, e o gênero *Enterococcus* apresenta resistência bacteriana adquirida frente aos fármacos utilizados para tratamento das infecções causadas por esse patógeno, que corresponde à vancomicina e aminoglicosídeos. Existe a dificuldade de limitar a disseminação desse patógeno no âmbito hospitalar, quando o mesmo se instala no ambiente sendo transmitido por contato direto. A internação prolongada, principalmente em UTI, constitui um fator relevante de risco, juntamente com doença de base grave, cirurgia abdominal ou cardiotorácica, sondagem vesical, cateterismo, ferida exposta, e uso de múltiplos antibióticos dentre eles a vancomicina (SOUZA et al., 2012; KOBAYASHI et al., 2011).

Em meio de cultura crescem facilmente na temperatura de 35°C, porém podem superar temperaturas de até 60 °C por até de 30 minutos em meio contendo NaCl a 6,5 %. O *E. faecalis* pode também colonizar os túbulos dentinários, tem alto poder de virulência, dentre eles enzimas líticas, citolisinas, substâncias de agregação, feromônios, e ácido lipoteicoico, além de interferir na ativação de linfócitos e outras células. As células bacterianas conseguem formar um biofilme formando estruturas multicelulares impedindo o combate pelo sistema imune e ação dificultando ou impedindo a ação de antimicrobianos (ANDRADE et al., 2011).

Nos casos de endocardite infecciosa, bacteremia, síndromes diarréicas em neonatos, infecções do trato urinário e feridas cirúrgicas merecem atenção especial, principalmente em paciente hospitalizados a um determinado período, e em uso de antibióticos, devem ser tratadas com substância que atue na sua parede celular (beta-lactâmico como penicilina e ampicilina) ou glicopeptídeo (vancomicina), associados com aminoglicosídeo, porém já

ocorre a resistência o que resulta na redução de antimicrobianos eficientes no tratamento das infecções sistêmicas. No Brasil foi detectado no ano de 1996 o primeiro caso de resistência do *Enterococcus* a vancomicina (BENDER; FREITAS; BARTH, 2010).

3.5. *SALMONELLA SP.*

O gênero *Salmonella* é pertencente à família *Enterobacteriaceae*, compreendendo as espécies *Salmonella entérica* (distribuída em seis subespécies e 2.564 sorovares, todas causadoras de doenças em humanos), e a *Salmonella bongori*. Assim, a salmonelose, zoonose causada pela bactéria *Salmonella sp.*, é uma patologia de importância mundial na saúde pública, e que muitas vezes implica no comércio internacional de alimentos, por sua ampla distribuição entre os animais, pela sua facilidade de sobreviver por longos períodos no ambiente (BONA et al., 2012).

A grande parte dos sorotipos de *Salmonella sp.* acometem o homem, e sua sintomatologia varia de acordo com o seu sorotipo. A *Salmonella Typhi* causa a febre tifóide, acometendo somente o homem, septicemia, diarreia, vômitos e febre alta, podendo evoluir para o óbito. A *Salmonella paratyphi* causa a febre entérica, septicemia, gastroenterite, e vômitos. As infecções entéricas têm como agente etiológico as demais salmonelas, desenvolvem quadros de infecção, diarreia, dores abdominais, febre baixa e vômitos, em sua maioria não evoluem para óbito, são as mais comuns a manifestar-se e geralmente não necessitam de antibióticos para alcançar a cura (SHINOHARA et al., 2008).

A *Salmonella sp.* faz parte, na maioria das vezes, da microbiota de animais domésticos, como aves, cães, equinos. O microorganismo é expelido juntamente com as fezes do animal e sua transmissão se dá, principalmente, através do consumo de alimentos e água contaminados. De acordo com os principais sorotipos que acometem os animais, tais possuem fatores de virulência como presença de endotoxinas, produção de citocinas, viabilidade intracelular do microorganismo e a resistência aos antimicrobianos comumente usados, dificultando o seu controle (RIBEIRO et al., 2010).

As salmoneloses são as principais infecções bacterianas causadas por alimentos, principalmente ovos e carnes crus. Estudos comprovam que com a crescente demanda de produtos cárneos industrializados, mostram a contaminação destes alimentos por *Salmonella sp.* uma vez que conseguem sobreviver por longos períodos a temperaturas abaixo de 0 °C. No Sul do Brasil o sorotipo que mais causou infecções alimentares em humanos foi a *Salmonella enteritidis*, provavelmente pelas suas várias formas de contaminação das aves, como água, alimento e ambiente contaminados (FLORES et al., 2012; FAI et al., 2011).

Estudo realizado em Salvador revelou dados alarmantes da incidência de *Salmonella sp.* em amostras de queijos crus e assados, uma vez que esse patógeno consegue se manter viável por longos períodos. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), é necessário identificar a ausência dessa bactéria em qualquer alimento (MENESES et al., 2012).

Em aves, essas bactérias têm ação benéfica contribuindo para o desenvolvimento, ativação e manutenção do sistema imune no trato gastrointestinal destes. Os suínos são fontes primárias de salmonelose em humanos (LOURENÇO et al., 2013; LOPES et al., 2009).

3.6. *KLEBSIELLA SP.*

A *Klebsiella sp.* pertence à família *Enterobacteriaceae*, grande grupo de Gram negativas, juntamente com os gêneros *Enterobacter*, *Serratia* e *Hafnia*. O gênero *Klebsiella* subdivide-se em cinco espécies: *K. oxytoca*; *K. planticola*; *K. terrigena*, *K. mobilis* e *K. pneumoniae*, sendo a *K. pneumoniae* um bastonete gram-negativo aeróbio facultativo, não esporulado e imóvel. Sua identificação é facilitada por possuir características bioquímicas singulares como reação de oxidase negativa, fermentação de glicose, redução de nitrato, lisina positiva, citrato e indol negativos, tríplice açúcar ferro (TSI) positivo com produção de gás, ornitina negativa, metaboliza a lactose, utiliza o citrato como fonte de carbono e também hidrolisa a uréia, podem formar gás ou não. A maioria é capaz de produzir o butilenoglicol como produto final da fermentação da glicose (SANTOS, 2007).

Em neonatos a *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) é uma das principais Gram negativas produtoras de betalactamase de espectro estendido (ESBL) a causar morte entre estes dentro do ambiente hospitalar. As unidades com neonatos doentes e prematuros podem desenvolver facilmente surtos de *K. pneumoniae*, pois sobrevivem no ambiente e sua transmissão se dá, principalmente, pelas mãos dos profissionais que manipulam esses recém-nascidos (TRAGANTE et al., 2008).

A *K. pneumoniae* causa, principalmente a pneumonia comunitária, geralmente em pacientes imunocomprometidos. Segundo estudo realizado em amostras isoladas no estado de Ceará, Brasil, o meropenem é o antimicrobiano mais estável e que apresenta boa sensibilidade *in vitro* frente às cepas de *K. pneumoniae* ESBL, que faz parte da classe das drogas carbapenemas, apresentando amplo espectro bacteriano (MENEZES et al., 2007).

A *K. pneumoniae* se destaca entre os gêneros mais encontrados no ambiente, comumente no leite não pasteurizados, causando a mastite em bovinos e suínos. No homem, acomete vários processos inflamatórios, infecções do trato respiratório superior, e ouvido médio, além de pneumonia. Pode causar também, a meningite (ZAPPA; MELVILLE; BENITES, 2009).

4. BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES NOSOCOMIAIS

Mais de 10% dos pacientes que são internados em hospitais são infectados através de processos invasivos ou pela terapia de imunossupressão. As principais infecções causadas por bactérias multirresistentes têm como principais agentes etiológicos Estafilococos resistentes

à meticilina, Enterobacterias e Pseudomonas. Tais patógenos causam, frequentemente, grandes surtos em todo o hospital. O uso indiscriminado e maciço de antimicrobianos facilita o surgimento dessas cepas multirresistentes. As UTIs são reservatórios frequentes dessas cepas. Sua transmissão interpaciente se dá principalmente pela falta de higienização das mãos, associada ao excesso de trabalho dos profissionais de saúde (ANVISA, 2007).

5. RESULTADOS

De acordo com o experimento as cepas Gram negativas, *Salmonella sp.* ATCC 14028 e *Klebsiela sp.* ATCC 13883, se mostraram resistentes ao extrato aquoso de alecrim em todas as suas concentrações, conforme demonstra as figuras a seguir:

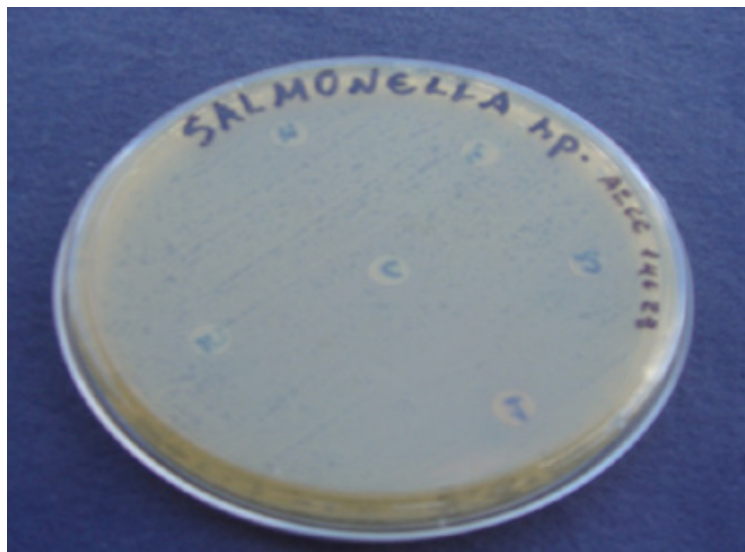


Figura 5. *Salmonella sp.* ATCC 14028, sem halo de inibição em nenhuma das concentrações do extrato aquoso de alecrim.

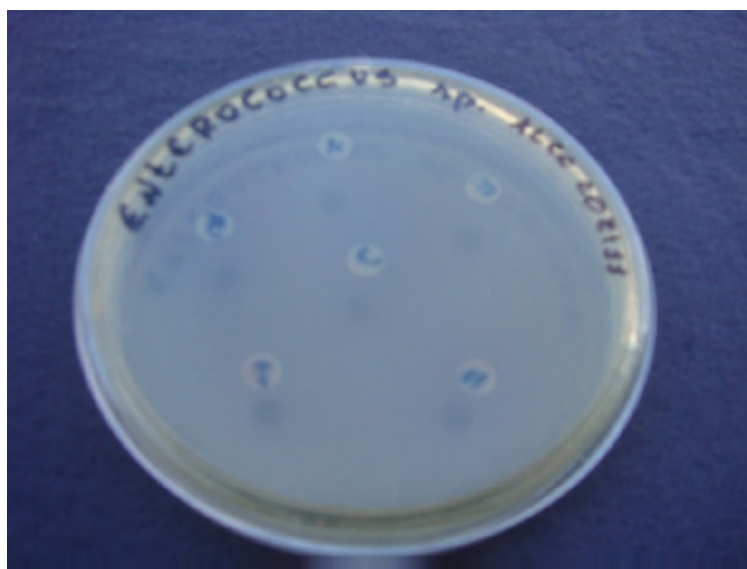


Figura 6. *Klebsiela sp.* ATCC 13883, sem halo de inibição em nenhuma das concentrações do extrato aquoso de alecrim.

Já as cepas de Gram positivas, teve como resultado o *S. pyogenes*, ATCC 19615 resistente.

As cepas de *Enterococcus sp.* ATCC 202155, também se mostrou resistente.

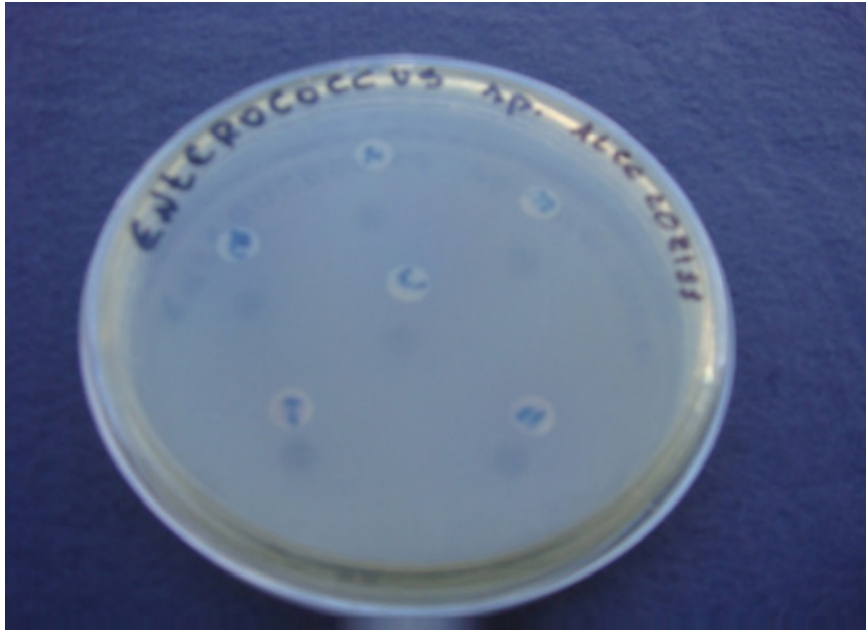


Figura 7. *Streptococcus pyogenes*, ATCC 19615, sem halo de inibição em nenhuma das concentrações aquosas do extrato de alecrim.

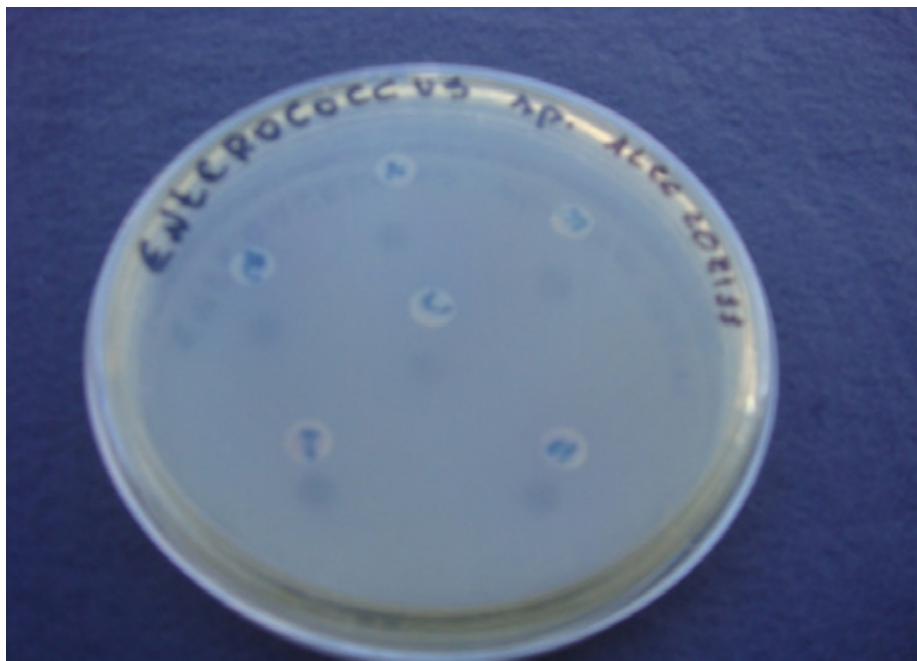


Figura 8. *Enterococcus sp.*, ATCC 202155, sem halo de inibição em nenhuma das concentrações aquosas do extrato de alecrim.

E o *S. aureus* mostrou halo de inibição de 12 mm, o que de acordo com a tabela de inibição demonstra que o extrato aquoso de alecrim na concentração de 5% possui ação bacteriolítica frente à cepa de *S. aureus* ATCC 29213.



Figura 9. *Staphylococcus aureus*, ATCC 29213, mostrando o halo de inibição de 12 mm.

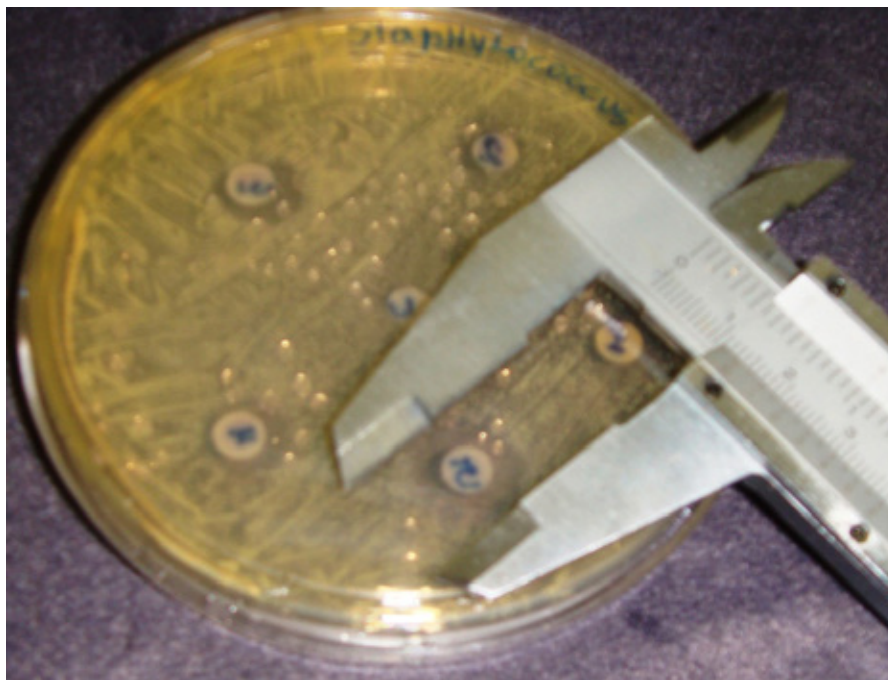


Figura 10. Medição do halo de inibição de 12 mm com paquímetro.

A seguir, tabela mostrando a medição dos halos de cada concentração de alecrim, sendo a concentração de 5%, a concentração mais sensível, 12 mm:

Tabela 1. Valores de halos inibitórios esperados para controle de qualidade

Agente	Código	Concentração	S. aureus
Alecrim	ALC	80%	0 mm
Alecrim	ALC	40%	2 mm
Alecrim	ALC	20%	4 mm
Alecrim	ALC	10%	4 mm
Alecrim	ALC	5%	12 mm

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mais estudos devem ser realizados para uma melhor análise desse mecanismo, mas tal estudo mostra uma perspectiva positiva frente ao desenvolvimento de um antimicrobiano de origem natural ou ainda associado a um sintético, que pode trazer menos efeitos colaterais do que os antimicrobianos sintéticos existentes no mercado hoje; além de um novo mecanismo que visa um melhor tratamento do paciente infectado com cepas já resistentes aos métodos atuais, como já demonstrados anteriormente, podendo levar a óbito.

É necessário ainda mais estudos a respeito do potencial de ação bacteriostático e/ou bacteriolítico do extrato de alecrim. A literatura descreve estudo que comprova o potencial inibitório diante do seu extrato aquoso de alecrim sob o *Staphylococcus aureus* como demonstra a tabela abaixo (SOUSA; CONCEIÇÃO, 2007):

Tabela 2. Halos inibitórios sob a cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Concentração	<i>Staphylococcus aureus</i>
100%	12,5 mm
50%	11,5 mm
25%	10,5 mm

Silva et al. (2008) sugerem que o alecrim possui compostos bioativos na atividade antimicrobiana e antiaderente *in vitro* sobre bactérias orais planctônicas (*Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus casei*).

Hentz (2007) afirma que o óleo essencial de alecrim, em sua forma pura, inibe a bactéria *Salmonella sp.*; e ainda, constatou-se a ação antioxidante do alecrim, administrado em ratos sobre estresse oxidativo presente no diabetes experimental.

Ainda, de acordo com Ribeiro et al. (2012), as bactérias Gram negativas são bem resistentes a antibióticos sintéticos do que as bactérias Gram positivas, devido a sua membrana constituída por fosfolipídios, lipopolissacarídeos e proteínas, que formam uma barreira que confere grande impermeabilidade impossibilitando ou dificultando a entrada do antibiótico; contudo, o estudo realizado com o óleo essencial de alecrim demonstrou efeito positivo, devido à natureza lipídica do óleo de alecrim. O mesmo mostrou-se eficaz associado à ampicilina, tetraciclina e nitrofurantoína na resistência às cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella sp.*

Mais estudos realizados que demonstram a eficácia tanto de extratos como de óleos do alecrim agindo como antimicrobianos em bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Mycobacterium* e *Escherichia*. (CLEFF *et al.*; 2012).

No que diz respeito a sua ação antifúngica, Castro (2011) ressalta citações da literatura e desenvolve estudo que comprova a sensibilidade sobre o gênero *candida sp.* frente ao óleo essencial de alecrim.

Através do presente trabalho buscou-se o desenvolver pesquisa a fim de testar o potencial bacteriolítico ou bacteriostático do extrato aquoso de alecrim frente a varias cepas citadas, onde confirmou a ação bacteriolítica do extrato aquoso de alecrim, na concentração de 5%, houve inibição com um halo de 12 mm na cepa de *S. aureus*, concordando com os estudos encontrados na literatura. Verificou-se que a maioria dos experimentos com o alecrim é feito na forma de óleo essencial, ou extrato alcoólico. Portanto, buscou-se investigar a sua ação aquosa em diferentes concentrações.

A Biomedicina voltada para a área da pesquisa, busca estudar o mecanismo das doenças humanas bem como a forma de combatê-las. O Biomédico está apto para identificar, classificar e estudar os microrganismos causadores de enfermidades e desenvolver fármacos e vacinas, como meio de tratá-las. A pesquisa das patologias humanas passou a ser a principal atividade de tais profissionais, que unem conhecimentos da Biologia e Medicina, desenvolvendo um papel de excelência no campo científico, campo esse em intensa ascensão voltado para a pesquisa com destaque mundial, como o Projeto Genoma Humano, aonde Biomédicos brasileiros trabalham ao lado de outros profissionais.

REFERÊNCIAS

ANVISA, Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 29/04/2013.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária Investigação e controle de bactérias multirresistentes. Brasil, 2007.

ALVES, P. M. ; PEREIRA, J. V.; HIGINO, J. S.; PEREIRA, M. S. V.; QUEIROZ, M. G. Atividade antimicrobiana e antiaderente in vitro do extrato de *Romarinus officinalis* Linn. (alecrim) sobre microorganismos cariogênicos. Arquivos em Odontologia. Volume 44 n  02, 2008.

ANDRADE, A. O.; SCELZA, M. F. Z.; PINTO, S. S.; GUARALDI, A. L. M.; JÚNIOR, R. H. Isolamento e identificação de *Enterococcus sp.* em infecções endodônticas primarias. Revista Brasileira de Odontologia. Rio de Janeiro, v. 68, n. 1, p 20-4, 2011.

ANTUNES, R.; DIOGO, M.; CARVALHO, A.; PIMENTEL, T.; OLIVEIRA, J. Síndrome do Choque Tóxico por *Streptococcus pyogenes*. Acta Médica Portuguesa. 24 (S3): 617-620, 2011.

BALBINI, A. P. S.; MONTOVANI, J. C.; CARVALHO, L. R. Faringotonsilites em crianças: visão de uma amostra de pediatras e otorrinolaringologistas. Revista Brasileira de Otorrinolaringologia. Vol. 75, n. 1., São Paulo, 2009.

BAUER, A.W.; KIRBY, W.N.; SHERRIS, J.C. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. ,Am. J. Clin. Pathol., v.45, p.493-496, 1966.

- BENDER, E. A.; FREITAS, A. L. P.; BARTH, A. L. Avaliação do perfil de suscetibilidade antimicrobiana de *Enterococcus* spp. isolados em dois hospitais de Porto Alegre - RS, Brasil. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, v. 42(1): 15-19, 2010.
- BERNARDE, G. E. C.; WINGERT, B.; PEREIRA, G. Amigdalites. Moreira Jr. Editora. *Otorrinolaringologia do Instituto Penido Burnier*. Vol. 67, no. 10, 2010.
- BONA, T. D. M. M.; PICKLER, L.; MIGLINO, L. B.; KURITZA, L. N.; VASCONCELOS, S. P.; SANTIN, E. Óleo essencial de orégano, alecrim, canela, e extratos de pimenta no controle de *Salmonella*, *Eimeria* e *Clostridium* em frangos de corte. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, 2012.
- BRASIL, P. Escala Nefelométrica de Mc Farland. Disponível em: <http://www.probac.com.br/bulas/nefelobac.pdf>. Acesso em: 02/03/2013.
- CASTRO, R. D.; LIMA, E. O. Atividade antifúngica dos óleos essenciais de sassafrás (*Ocotea odorifera* Vell.) e alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) sobre o gênero *Candida*. *Revista Brasileira de Plantas Medicináveis*. V. 13, no. 2, Botucatu, 2011.
- CLEFF, M. B.; MEINERZ, A. R. M.; MADRID, I.; FONSECA, A. O.; ALVES, G. H.; MEIRELES, M. C. A.; RODRIGUES, M. R. A. Perfil de suscetibilidade de leveduras do gênero *Candida* isoladas de animais ao óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. *Revista Brasileira de Plantas Medicináveis*, vol.14 no.1, Botucatu, 2012.
- FAI, A. E. C.; FIGUEIREDO, E. A. T.; VERDIN, S. E. F.; PINHEIRO, N. M. S.; BRAGA, A. R. C.; STAMFORD, T. L. M. *Salmonella* sp e *Listeria monocytogenes* em presunto suíno comercializado em supermercados de Fortaleza (CE, Brasil): fator de risco para a saúde pública. *Ciência e Saúde Coletiva*. 16(2): 657-662, 2011.
- FERNANDES, L. B.; JUNIOR, L. F. F. F. Dermatologia comparativa: similaridade entre elefantíase nostra verrucosa e coral. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. Vol. 86 no. 4, Rio de Janeiro, 2011.
- FILHO, B. C. A.; IMAMURA, R.; SENNES, L. U.; SAKAE, F. A. Papel do teste de detecção rápida do antígeno do estreptococcus B- hemolítico do grupo A em pacientes com faringoamigdalite. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*. Vol.72, no. 1. São Paulo, 2006.
- FLORES, F.; LOVATO, M.; WILSMANN, C. G.; GAZONI, F. L.; SILVEIRA, F.; CARON, L. F.; BEIRÃO, B. C. B. Comportamento de células do sistema imune frente ao desafio com *Salmonella* Enteritidis em aves tratadas e não tratadas com ácidos orgânicos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, vol. 32 no. 6, Rio de Janeiro, 2012.
- FRAGA, O. C. Isolamento de *Enterococcus* Spp. com resistência a altas concentrações de aminoglicosídeos em ambiente nosocomial e comunitário na cidade de Passo Fundo - RS. *NewsLab*, Edição 116, 2013.
- GUIMARÃES, A. C.; DONALISIO, M. R.; SANTIAGO, T. H. R.; FREIRE, J. B. Óbitos associados à infecção hospitalar, ocorridos em um hospital geral de Sumaré-SP, Brasil. *Revista Brasileira de Enfermagem*, vol. 64, n. 5, Brasília, 2011.
- HENTZ, S. M.; SANTIN, N. C. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) contra *Salmonella* sp. *Evidência*, Joaçaba, v. 7, n. 2, p. 93-100, 2007.
- HUNGRIA, T. D.; LONGO, P. L. Viabilidade de *Lactobacillus casei* em alimento probiótico infantil relacionada a vida-de-prateleira. *Revista Saúde*. 3 (3), 2009.
- JERÔNIMO, H. M. A.; QUEIROGA, C. R. E.; COSTA, A. C. V.; BARBOSA, I. M.; CONCEIÇÃO, M. L.; SOUZA, E. L. Ocorrência de *Staphylococcus* spp. e *S. aureus* em superfícies de preparo de alimentos em unidades de alimentação e nutrição. *Nutrire: Revista Sociedade Brasileira de Alimentação*; v. 36, n. 1, p. 37-48, São Paulo; 2011.
- KLUCZYNIK, C. E. N.; SOUZA, J. H.; PALMEIRA, J. D.; FERREIRA, S. B.; ANTUNES, R. M. P.; ARRUDA, T. A.; MORAIS, M. R.; CATÃO, R. M. R. Perfil de sensibilidade de *Salmonella* sp. de ambiente aquático a antimicrobianos comerciais e a extratos hidroalcoólicos de plantas medicinais. *RBAC*, vol. 42(2): 141-144, 2010.
- KOBAYASHI, C. C. B. A.; SADOYAMA, G.; VIEIRA, J. D. G.; PIMENTA, F. C. Resistência

- antimicrobiana associadas em isolados clínicos de *Enterococcus* spp. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Vol. 44 no. 3, Uberaba, 2011.
- LICHTENFELS, E.; FRANKINI, A. D.; PALUDO, J.; AZEVEDO, P. A. Prevalência de resistência bacteriana nas infecções de ferida operatória causadas por estafilococos em cirurgia vascular periférica. Revista da AMRIGS, Porto Alegre, 54 (2): 141-146, 2010.
- LOPES, R. M.; ALMEIDA, F.; PADOVANI, N.; BOTTURA, C. R. P.; *Salmonella* sp. em suínos. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária. Ano VII – Número 12, São Paulo, 2009.
- LOURENÇO, M. C.; KURITZA, L. N.; WESTPHAL, P.; MIGLINO, L. B.; PICKLER, L.; KRAIESKI, A. L.; SANTIM, E. Uso de probiótico sobre a ativação de células T e controle de *Salmonella* Minnesota em frangos de corte. Pesquisa Veterinária Brasileira, vol. 33 no. 1. Rio de Janeiro, 2013.
- MARTINS, PICOLI, S. U. Métodos alternativos para detecção de betalactamases de espectro estendido em *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. Vol 47 no. 4 Rio de Janeiro, 2011.
- MAY, A.; SUGUINO, E.; MARTINS, A. N.; BARATA, L. E. S.; PINHEIRO, M. Q. Produção de biomassa e óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em função da altura e intervalo de cortes. Revista Brasileira de plantas Medicinais, vol. 12, n. 2, Botucatu, 2010.
- MELO, G. B.; MELO, M. C.; CARVALHO, K. S.; GONTIJO FILHO, P. P. *Staphylococcus aureus* e estafilococos coagulase negativos resistentes à vancomicina em um Hospital Universitário Brasileiro. Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada. 30(1):55-61, 2009.
- MENESES, R. B.; CARDOSO, R. C. V.; GUIMARÃES, A. G.; GÓES, J. A.W.; SILVA, S. A.; ARGOLO, S. V. O comércio de queijo de coalho na orla de Salvador, Bahia: trabalho infantil e segurança de alimentos. Revista de Nutrição. São Paulo, 2012.
- MENEZES, E. A.; NASCIMENTO, K. M.; SOARES, K. P.; AMORIM, L. N.; NETO, J. G. L.; CUNHA, F. A. Avaliação da atividade in vitro do meropenem contra cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de betalactamases de espectro expandido isoladas na cidade de Fortaleza, Ceará. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical vol. 40 no. 3, Uberaba, 2007.
- MORAIS, V. M. S.; ORSI, A. R.; MARANHÃO, F. C. A.; CASTRO, T. M. P. P. G.; CASTRO, K. C. B.; SILVA, D. M. W. Prevalência de *Streptococcus* B-hemolítico em crianças portadoras de necessidades especiais. Brazillian Journal of Otorhinolaryngology. Vol. 78. no. 5, São Paulo. 2012.
- OLIVEIRA, A. C.; PAULA, A. O. Descolonização de portadores de *Staphylococcus aureus*: indicações, vantagens e limitações. Texto & Contexto – Enfermagem, vol. 21 no. 2. Florianópolis, 2012.
- PEREIRA, L. M. P.; JUMAN, S.; BEKELE, I.; SEEPERSADSINGH, N.; ADESIYUN, A. A. Achado de bactérias selecionadas em crianças de Trinidad com doença amigdaliana crônica. Revista Brasileira de Otorrinolaringologia. Vol. 74 no. 6, São Paulo, 2008.
- RIBEIRO, D. S.; MELO, D. B.; GUIMARÃES, A. G.; VELOZO, E. S. Avaliação do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) como modulador da resistência bacteriana. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v.33, n. 2, p. 687-696. 2012.
- RIBEIRO, M. G.; FERNANDES, M. C.; PAES, A. C.; SIQUEIRA, A. K.; PINTO, J. P. A. N.; BORGES, A. S. Caracterização de sorotipos em linhagens do gênero *Salmonella* isoladas de diferentes afecções em animais domésticos. Pesquisa Veterinária Brasileira, vol. 30, no. 2. Rio de Janeiro, 2010.
- SANTANA, E. H. W.; BELOTI, V.; ARAGON-ALEGRO, L. C.; MENDONÇA, M. B. O. C. Estafilococos em alimentos. Arquivo instituto de Biologia. São Paulo, v. 77, n. 3, p. 545-554, 2010.
- SANTOS, D. F. Características microbiológicas de *Klebsiella pneumoniae* isoladas no meio ambiente hospitalar de pacientes com infecção nosocomial. Dissertação de Mestrado em Ciências Ambientais e Saúde. Goiás, 2007.
- SHINOHARA, N. K. S.; BARROS, V. B.; JIMENEZ, S. M. C.; MACHADO, E. C. L.; DUTRA, R. A. F.; FILHO, J. L. L. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. Ciência E Saúde Coletiva, vol. 13 no. 5. Rio de Janeiro, 2008.

- SILVA, A. M. O.; WARTHA, E. R. S.; CARVALHO, E. B. T.; LIMA, A.; NOVOA, A.V.; FILHO, J. M. Efeito do extrato aquoso de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) sobre o estresse oxidativo em ratos diabéticos. *Revista Nutrição* vol. 24 n° 1. Campinas, 2011.
- SILVA, E. C. B. F.; SAMICO, T. M.; CARDOSO, R. R.; RABELO, M. A.; NETO, A. M. B.; MELO, F. L.; LOPES, A. C. de S.; ACA, I. S.; MACIEL, M. A. V. Colonização pelo *Staphylococcus aureus* em profissionais de enfermagem de um hospital escola de Pernambuco. *Revista da Escola de Enfermagem da USP* vol.46 no.1 São Paulo, 2012.
- SILVA, L. V. S. Epidemiologia clínica e molecular do *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina carreadores de cassete cromossômico estafilocócico mec tipo IV de pacientes atendidos em Hospital universitário de Porto Alegre. Dissertação de Mestrado, 2009.
- SILVA, M. S. A.; SILVA, M. A. R.; HIGINO, J. S.; PEREIRA, M. S. V.; CARVALHO, A. A. T. Atividade antimicrobiana e antiaderente in vitro do extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn. sobre bactérias orais planctônicas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2008.
- SOUSA, T. M. P.; CONCEIÇÃO, D. M. Atividade antibacteriana do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). São Paulo, 2007.
- SOUZA, M. A.; RIBEIRO, L. C. M.; PRIMO, M. G. B.; SIRINO, S. C. A.; GUILHARDE, A. O.; BATISTA, L. J. A. Enterococos resistente à Vancomicina em um Hospital Universitário no Centro-Oeste do Brasil. *Revista de Patologia Tropical*. Vol. 42. Goiânia, 2012.
- TRAGANTE, C. R.; CECCON, M. E. J. R.; FALCÃO, M. C.; SEITI, M.; SAKITA, N.; VIEIRA, R. A. Prevalência de sepse por bactérias Gram negativas produtoras de beta-lactamase de espectro estendido em Unidade de Cuidados Intensivos Neonatal. *Revista Paulista de Pediatria*. Vol. 26 no. 1, São Paulo, 2008.
- ZAPPA, V.; MELVILLE, P. A.; BENITES, N. R. Avaliação através do método de contagem formadoras de colônias (UFC) o crescimento no leite de colônias de *Candida* spp e *Klebsiella pneumoniae* isoladas de tanque de refrigeração de leite, em culturas puras e associadas. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*. Ano VII número 13. Garça, 2009.