

Análise prospectiva da atividade antibacteriana de *Ocimum gratissimum* contra cepas *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* coletadas de pacientes com infecção hospitalar

Elisa Moreira Pessoa¹, Amanda Rocha Moreno¹, Mariléia Chaves Andrade²

1. Acadêmicas do 5ºano do Curso de Medicina da Faculdade de Medicina de Itajubá. Itajubá, Minas Gerais, Brasil.
2. Professora Titular da Faculdade de Medicina de Itajubá. Itajubá, Minas Gerais, Brasil.

Correspondência:

Elisa Moreira Pessoa

Faculdade de Medicina de Itajubá

Av. Renó Júnior, 368 | São Vicente | CEP 37502-138| Itajubá – MG

(35) 3629-8700

elisapessoa2b@rocketmail.com

Resumo

Introdução: A resistência antimicrobiana é o principal problema de saúde pública no mundo e ameaça a eficácia terapêutica empregada para as doenças infecciosas de etiologia bacteriana. Diante dessa problemática, faz-se necessário a busca de soluções terapêuticas alternativas como a etnofarmacologia. Assim sendo, o *Ocimum gratissimum*, comumente conhecido como Alfavaca, torna-se um importante objeto de estudo com a finalidade de ampliar as opções de terapêutica contra bactérias de grande relevância no cenário atual, como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Objetivo:** Verificar o efeito antimicrobiano do extrato aquoso de *Ocimum gratissimum* contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Metodologia:** As placas utilizadas continham 96 poços, sendo 8 fileiras (de A a H), e 12 colunas de poços. Foi colocado 50µl de caldo *Müller Hunton* em todos os poços da placa, adicionando-se 50µl do extrato de *Ocimum gratissimum* em diferentes concentrações nas linhas horizontais. Depois, colocou-se 10µl de cada cepa bacteriana diluída, nos poços de cada coluna da placa. Em seguida as placas foram incubadas em estufa 35°C por 24h. Adicionou-se então 20µl de Trifenil Tetrazólico (TTC) em todos os poços e, em seguida, as placas foram incubadas na estufa de 35°C por 3h. Realizou-se então a análise do crescimento bacteriano nas placas por aspectos colorimétricos devido à presença do revelador TTC. **Resultados:** O percentual de inibição do crescimento de *S. aureus* foi diretamente proporcional à concentração do extrato, tendo uma média de 66,25% de inibição do crescimento bacteriano entre as doses. O perfil de inibição do crescimento de *E. coli* também foi diretamente proporcional à concentração do extrato, mas em uma apresentação não linear, resultando em uma média de 17,5% de inibição do crescimento bacteriano entre as doses. **Conclusão:** Como demonstrado em nosso trabalho e visto na literatura, a Alfavaca possui atividade antimicrobiana através de suas folhas, e vista em demais estudos pelo seu óleo essencial e demais componentes perante *E. coli* e *S. aureu*, com maior efetividade para cepas de *S. aureus*.

Palavras-chave: atividade antibacteriana, *Escherichia coli*, *Ocimum gratissimum*, *Staphylococcus aureus*.

Title: Prospective analysis of the antibacterial activity of *Ocimum gratissimum* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

Abstract

Introduction: Antimicrobial resistance is the major public health problem in the world and threatens the therapeutic efficacy employed for infectious diseases of bacterial etiology. In view of this problem, it is necessary to search for alternative therapeutic solutions such as ethnopharmacology. Thus, *Ocimum gratissimum*, commonly known as Alfavaca, becomes an important object of study with the purpose of expanding the options of therapy against bacteria of great relevance in the current scenario, such as *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Objective:** To verify the antimicrobial effect of the aqueous extract of *Ocimum gratissimum* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Methodology:** The plates used contained 96 wells, 8 rows (A to H), and 12 well columns. 50µl of Müller Hinton broth was placed in all plate wells, adding 50µl of the *Ocimum gratissimum* extract at different concentrations in the horizontal lines. Then, 10µl of each diluted bacterial strain was placed in the wells of each column of the plate. Then the plates were incubated in an oven at 35 ° C for 24h. 20 µl of Trithoxyl Triphenyl (TTC) were then added to all wells, and then the plates were incubated in the 35 ° C oven for 3h. The bacterial growth in the plates was then analyzed by colorimetric aspects due to the presence of the developer TTC. **Results:** The percentage of inhibition of *S. aureus* growth was directly proportional to the extract concentration, with a mean of 66.25% inhibition of bacterial growth between doses. The *E. coli* growth inhibition profile was also directly proportional to the extract concentration, but in a non-linear presentation, resulting in a mean of 17.5% inhibition of bacterial growth between doses. **Conclusion:** As demonstrated in our work and seen in the literature, Alfavaca has antimicrobial activity through its leaves, and seen in other studies for its essential oil and other components before *E. coli* and *S. aureus*, with greater effectiveness for strains of *S. Aureus*.

Key words: antibacterial activity, *Escherichia coli*, *Ocimum gratissimum*, *Staphylococcus aureus*.

Introdução

O *Staphylococcus aureus*, uma bactéria Gram positiva, é um dos principais agentes bacterianos envolvidos em infecções nosocomiais e comunitárias, tais como infecções de pele, infecções pós-cirúrgicas, pneumonias, abscessos e endocardites que podem apresentar altos índices de morbidade e mortalidade.¹ Destaca-se por sua elevada frequência equivalente a 30% nas infecções hospitalares e piogênicas, além de sua patogenicidade que o capacita a produzir doenças, tanto em indivíduos imunocomprometidos quanto em hígidos, além de possuir fácil disseminação intra-hospitalar devido a sua resistência aos antimicrobianos.^{2,3} Nenhuma outra espécie bacteriana, com semelhante nível de virulência para o organismo humano apresenta tamanho grau de flexibilidade para suportar e sobreviver à terapia antimicrobiana.⁴

Escherichia coli é uma bactéria Gram negativa presente na microbiota normal do ser humano e exerce um efeito benéfico sobre o organismo suprimindo a multiplicação de bactérias prejudiciais e sintetizando uma quantidade de vitaminas. Dentre as diversas cepas de *E.coli*, entretanto, há grupos capazes de provocar doenças graves, como por exemplo as cepas enteropatogênicas (EEC). *E. coli* por muitas vezes liderou a lista de bactérias Gram negativas mais frequentes em infecções hospitalares, principalmente isoladas de infecções do trato urinário (ITU), na qual se faz presente em 80% dos casos, muito prevalente nos leitos de clínica médica em hospitais. Cerca de 10 a 20% das mulheres mundialmente contraem ITU em alguma época de suas vidas, sendo que, dentre 20 dessas, 25 a 30% apresentam recidivas. Na urocultura, *E.coli* é o patógeno isolado em 75 a 90% dos casos.⁵ Essa bactéria faz parte da microbiota intestinal, entretanto, por contaminação pode ocorrer sua colonização na mucosa genital e sua disseminação para o

trato urinário desencadeando a infecção. Diversos estudos têm mostrado que a terapêutica empírica inapropriada pode ser a causa de mortalidade em pacientes com bacteremia originada no trato urinário.⁶

A resistência antimicrobiana é o principal problema de saúde pública no mundo e ameaça a eficácia terapêutica empregada para as doenças infecciosas de etiologia bacteriana. Diversos fatores contribuem para a aquisição de resistência, como: o uso indiscriminado e irracional de antibióticos; problemas quanto ao diagnóstico correto; globalização - facilitando a transmissão de patógenos resistentes de um país a outro por viajantes infectados; ausência de um sistema global de vigilância epidemiológica, dentre outros. A consequência direta disso é a presença de infecções mais agressivas e de difícil controle na comunidade e no ambiente hospitalar e comunitário. Diante dessa problemática, faz-se necessário a busca de soluções terapêuticas alternativas como a etnofarmacologia, que tem se mostrado uma fonte promissora de novos medicamentos.⁷

Nesse contexto, temos a *Ocimum gratissimum*, amplamente distribuída em regiões de temperatura tropical e quente. A planta, popularmente conhecida como Alfavaca, é comumente usada em medicina popular para tratar doenças diferentes, infecções do trato respiratório superior, diarreia, cefaléia, doenças da pele, pneumonia e também tratamento para tosse, febre e conjuntivite. Estudos anteriores mostraram que os óleos essenciais (OE) de quatro espécies *Ocimum* cultivadas em Ruanda. *O. canum*, *O. gratissimum*, *O. trichodon* e *O. urticifolium*, exibem atividade antimicrobiana. Foi relatado que o óleo volátil desta planta contém principalmente fenóis, particularmente timol e que estes são provavelmente responsáveis por sua ação antimicrobiana relatada.⁸⁻¹¹ O presente trabalho busca, então, verificar a atividade antibacteriana do extrato aquoso de *Ocimum gratissimum* sobre cepas de bactérias isoladas de pacientes com infecção hospitalar, destacando-se para importantes patógenos dessas infecções, como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, que apresentam importância epidemiológica e clínica.

Materiais e métodos

O estudo foi realizado no Laboratório de Microbiologia e Laboratório de Bioquímica da Faculdade de Medicina de Itajubá (FMIIt). Foram utilizadas 50 cepas selecionadas de *Staphylococcus aureus* e 50 cepas de *Escherichia coli* provenientes do Banco de microrganismos do Laboratório de Microbiologia da FMIIt.

Reavivamento das amostras:

Foram retiradas do freezer 10 amostras por vez, que, depois de descongeladas à temperatura ambiente, foram vortezadas, repicadas em placas com meio seletivo Ágar Sabouraud e incubadas em estufa microbiológica à 37°C por 48 horas. Após esse tempo, foram selecionadas as amostras que apresentaram crescimento significativo. As amostras que não crescerem significativamente no meio apropriado, foram colocadas em caldo BHI (Brain Heart Infusion) e incubadas novamente em estufa microbiológica por 48 horas a 37°C. As amostras que tiverem crescimento satisfatório, identificado pela turvação do meio, foram selecionadas e as que não apresentaram crescimento, excluídas do estudo.¹²⁻¹⁴

Identificação das amostras:

As cepas selecionadas foram coletadas das placas Petri e então transferidas para microtubos contendo 5mL de solução salina (0,85%). Esses microtubos foram vortezados e após a homogeneização da suspensão, a densidade do inóculo foi verificada através da aferição da turbidez, empregando o cartão de Wickeman até atingir 3+ (quando ocorre o desaparecimento das linhas), que corresponde à escala 0,5 de Mc Farland, correspondendo a aproximadamente 108 UFC/mL.¹⁵ Em seguida, cada amostra foi diluída 10 vezes colocando 50µL da bactéria em 450µL de salina estéril, colocadas em tubos *ependorff* e mantidas sob refrigeração até a análise.¹⁶

Preparação do extrato de *Ocimum gratissimum*:

Na preparação do extrato utilizou-se 4g de folhas in natura de *Ocimum gratissimum* (lavadas cuidadosamente sob água corrente e secas ao ar ambiente por 24 horas) e 10 mL do solvente (água destilada) para realização da extração a quente. Para tal extração, as amostras foram adicionadas ao solvente em um copo estéril de 500 mL e os mesmos foram aquecidos durante 30 minutos em banho-maria a 90°C, posteriormente agitados vigorosamente a cada 30 minutos durante 3 horas e então deixados em repouso por 24 horas. Após o término dessa etapa, a solução foi filtrada com papel filtro. Obteve-se então uma solução-estoque na concentração de 0,4g/mL que posteriormente foi utilizada para processo de titulação e consequente obtenção de soluções com menores concentrações (200mg/mL, 100mg/mL, 50mg/mL, 25mg/mL, 12,5mg/mL, 6,25mg/mL, 3,125 mg/mL e 1,5625 mg/mL), as quais foram usadas nas placas para microdiluição como descrito a seguir.¹⁵

Análise da inibição do crescimento bacteriano pelo método da microdiluição em placas:

Essa análise foi realizada segundo metodologia padronizada de microdiluição em caldo, com adaptações. As placas utilizadas continham 96 poços, sendo 8 fileiras de poços, numeradas de A até H, e 12 colunas de poços, numeradas de 1 a 12. A princípio foi colocado 50µl de caldo Müller Hunton em todos os poços da placa. Em seguida, foi adicionado 50µl do extrato de *Ocimum gratissimum* em 8 diferentes concentrações, nas colunas apropriadas, ou seja, nas linhas horizontais (1 a 10 da placa): a fileira A receberá a concentração de 200 mg/mL, a B a concentração de 100 mg/mL e assim sucessivamente. Feito isso, foi adicionado 10µl de cada cepa bacteriana diluída (como já descrito – Identificação das bactérias), preparadas anteriormente, nos poços de cada coluna (de A até H) nos poços de 1 a 11 da placa. Desse modo, cada coluna continha uma cepa bacteriana diferente da outra, exemplificando: de A1 a H1 a cepa bacteriana foi a mesma, diferindo das fileiras A2 a H2, e assim por diante. A coluna de número 11 de cada placa recebeu o controle positivo, contendo 100 µL de caldo Müller Hunton e 10 µl de uma cepa bacteriana controle, e a coluna 12 recebeu o controle negativo: 50 µl do caldo Müller Hunton mais 50 µl do extrato nas diferentes concentrações. Em seguida, as placas foram incubadas em estufa a 35°C por 24h. Após esse tempo, foi adicionado 20µl do revelador Trifenil Tetrazólico (TTC), capaz de identificar o crescimento microbiano por aspectos colorimétricos, em todos os poços inclusive nos controles positivo e negativo. Em seguida, a placa foi incubada na estufa a 35°C por 3h, para ação do revelador. Concluído o período de 3h, realizou-se a leitura das placas através da coloração obtida com o revelador TTC, a qual indica: coloração avermelhada ou rosada para crescimento microbiano e coloração marrom demonstra que houve efeito inibitório da solução teste sobre o crescimento bacteriano.^{17,18}

Análise estatística:

Foi utilizado o Programa GraphPad Prisma, versão disponível no computador do Laboratório de Microbiologia da FMIIt, para plotagem dos resultados e interpretação estatística dos mesmos. Foram realizados testes de distribuição percentual, testes de correlação e comparação, para uma melhor interpretação dos resultados.¹⁸

Resultados

Análise da inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus* por diferentes concentrações do extrato bruto de *Ocimum gratissimum*:

Foram analisadas cepas de *Staphylococcus aureus* provenientes do Banco de microrganismos do Laboratório de Microbiologia da FMIIt. O teste de inibição utilizado no estudo foi da microdiluição em placas, de forma que cada cepa foi colocada em 10 poços da placa para ser testada frente a diferentes concentrações do extrato bruto de *Ocimum gratissimum*: 1,562mg/mL, 3,125mg/mL, 6,25mg/mL, 12,5mg/mL, 25mg/mL, 50mg/mL, 100mg/mL e 200mg/mL, como explicado em materiais e métodos.

O perfil de inibição do crescimento de *S. aureus* foi diretamente proporcional à concentração do extrato. A Figura 2 mostra em valores percentuais, que a menor concentração foi capaz de inibir apenas 10% das cepas, enquanto a maior concentração do extrato inibiu 100% das mesmas. Observa-se ainda, que a ação do extrato frente às cepas de *S. aureus* atingiu um platô de sua máxima eficácia frente ao número de cepas testadas, na dose de 25 mg/mL. Na Figura 1 pode-se observar quantitativamente tal perfil através do número de poços em que ocorreu ou não a inibição do crescimento bacteriano de *Staphylococcus aureus* nas diferentes concentrações de extrato aquoso de *Ocimum gratissimum*.

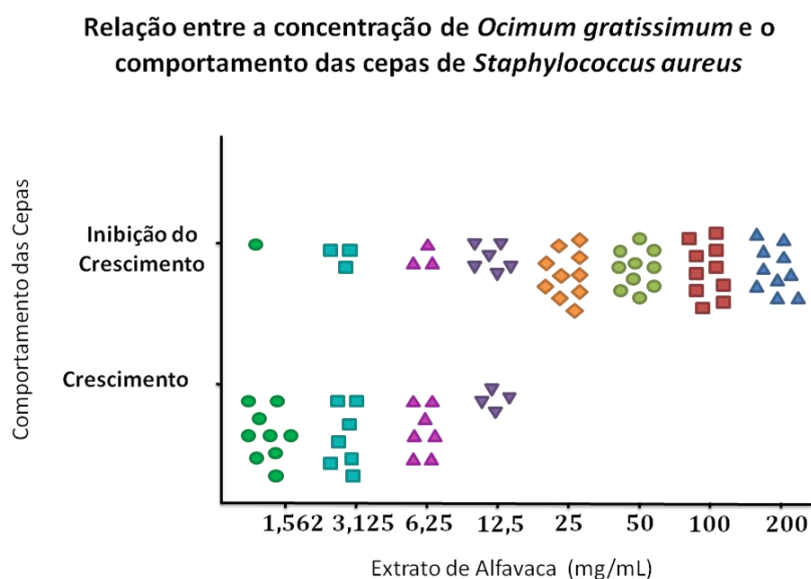


Figura 1: Relação entre as diferentes concentrações de extrato aquoso de *Ocimum gratissimum* e o comportamento das cepas de *Staphylococcus aureus*. Cinquenta cepas de *S. aureus*, isoladas de pacientes com infecção hospitalar, foram colocadas para incubar com diferentes concentrações do extrato de *Ocimum gratissimum* em placas, para avaliação da capacidade inibitória do crescimento bacteriano pelo teste de microdiluição. Resumidamente, em placas de poliestireno de 96 poços, sendo 8 fileiras (numeradas de A até H), e 12 colunas de poços. Colocou-se 50µl do extrato de *Ocimum gratissimum* e 10µl de cada cepa bacteriana. Após a incubação a 35°C por 24 horas, realizou-se a leitura das placas pela adição de 20 µL do revelador colorimétrico TTC a 2,5%. Poços com coloração avermelhada ou rosada indicam crescimento

microbiano e coloração marrom demonstram que houve efeito inibitório da solução teste sobre o crescimento bacteriano. Os dados foram tabulados e os resultados expressos graficamente.

Relação entre a concentração de *Ocimum gratissimum* e a porcentagem de inibição do crescimento das cepas de *Staphylococcus aureus*

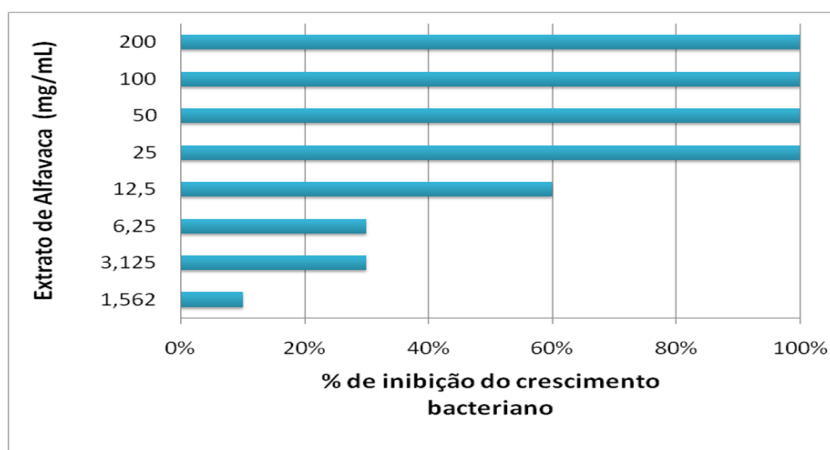


Figura 2: Relação entre as diferentes concentrações de extrato aquoso de *Ocimum gratissimum* e o comportamento das cepas de *Staphylococcus aureus*. O gráfico representa percentualmente a eficácia de inibição das cepas pelo extrato em suas diferentes concentrações, obtida através da análise dos aspectos colorimétricos das placas de diluição. As placas utilizadas continham 96 poços, sendo 8 fileiras de poços, numeradas de A até H, e 12 colunas de poços, numeradas de 1 a 12. Foi colocado 50µl de caldo Müller Hunton em todos os poços da placa, 50µl do extrato de *Ocimum gratissimum* em 8 diferentes concentrações nas linhas horizontais (1 a 10 da placa), 10µl de cada cepa bacteriana diluída nos poços de cada coluna (de A até H) nos poços de 1 a 11 da placa e por último 20µl do revelador Trifenil Tetrazólico (TTC) em todos os poços. Realizou-se a leitura das placas através da coloração obtida, a qual indica: coloração avermelhada ou rosada para crescimento microbiano e coloração marrom demonstra que houve efeito inibitório da solução teste sobre o crescimento bacteriano. Os dados foram tabulados e os resultados expressos graficamente.

Análise da inibição do crescimento de *Escherichia coli* por diferentes concentrações do extrato bruto de *Ocimum gratissimum*:

Foram analisadas cepas de *Escherichia coli* provenientes do Banco de microrganismos do Laboratório de Microbiologia da FMIIt. O teste de inibição utilizado no estudo foi da microdiluição em placas, de forma que cada cepa foi colocada em 10 poços da placa para ser testada frente a diferentes concentrações do extrato bruto de *Ocimum gratissimum*: 1,562mg/mL, 3,125mg/mL, 6,25mg/mL, 12,5mg/mL, 25mg/mL, 50mg/mL, 100mg/mL e 200mg/mL, como explicado em materiais e métodos.

O perfil de inibição do crescimento de *E. coli* também foi diretamente proporcional à concentração do extrato, mas em uma apresentação não linear. A Figura 4 mostra percentualmente que a menor concentração, de 1,562 mg/mL, não foi capaz de inibir o crescimento de nenhuma das cepas, assim como as doses de 3,125mg/mL, 6,25mg/mL, 12,5mg/mL, 25mg/mL e 50mg/mL. Nas doses de 100mg/mL e 200mg/mL houve uma equidade de inibição do crescimento, apresentado em 70% das cepas. Na Figura 3 pode-se observar quantitativamente tal perfil através do número de poços em que ocorreu ou não a inibição do crescimento bacteriano de *Escheichia coli* nas diferentes concentrações de extrato aquoso de *Ocimum gratissimum*.

Relação entre a concentração de *Ocimum gratissimum* e o comportamento das cepas de *Escherichia coli*

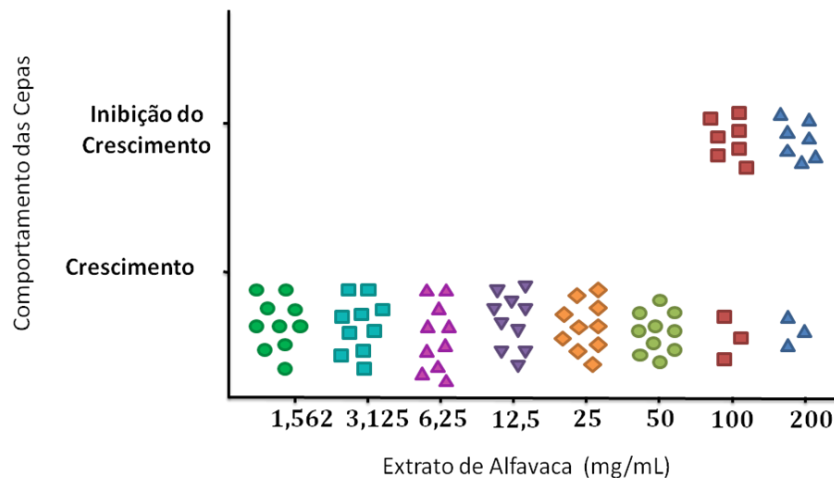


Figura 3: Relação entre as diferentes concentrações de extrato aquoso de *Ocimum gratissimum* e o comportamento das cepas de *Escherichia coli*. O gráfico representa quantitativamente o comportamento das cepas, obtidos através da análise dos aspectos colorimétricos das placas de diluição. As placas utilizadas continham 96 poços, sendo 8 fileiras de poços, numeradas de A até H, e 12 colunas de poços, numeradas de 1 a 12. Foi colocado 50µl de caldo Müller Hunton em todos os poços da placa, 50µl do extrato de *Ocimum gratissimum* em 8 diferentes concentrações nas linhas horizontais (1 a 10 da placa), 10µl de cada cepa bacteriana diluída nos poços de cada coluna (de A até H) nos poços de 1 a 11 da placa e por último 20µl do revelador Trifenil Tetrazólico (TTC) em todos os poços. Realizou-se a leitura das placas através da coloração obtida, a qual indica: coloração avermelhada ou rosada para crescimento microbiano e coloração marrom demonstra que houve efeito inibitório da solução teste sobre o crescimento bacteriano. Os dados foram tabulados e os resultados expressos graficamente.

Relação entre a concentração de *Ocimum gratissimum* e a porcentagem de inibição do crescimento das cepas de *Escherichia coli*

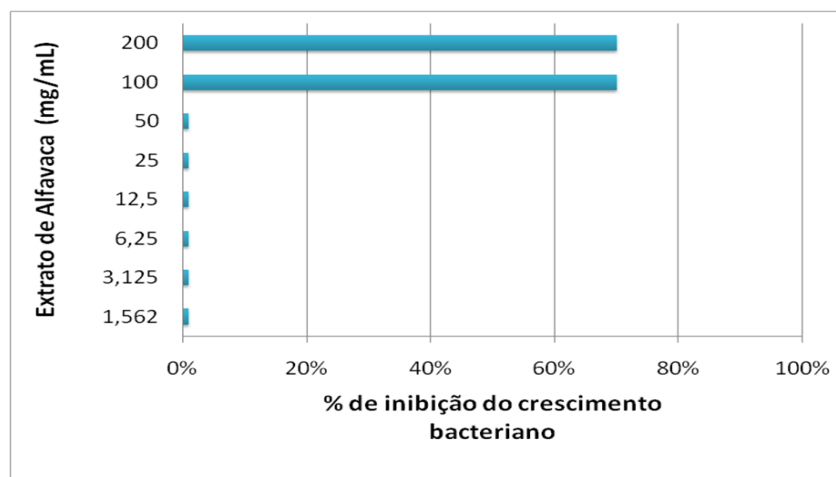


Figura 4: Relação entre as diferentes concentrações de extrato aquoso de *Ocimum gratissimum* e o comportamento das cepas de *Escherichia coli*. O gráfico representa percentualmente a eficácia de inibição das cepas pelo extrato em suas diferentes concentrações, obtida através da análise dos aspectos colorimétricos das placas de diluição. As placas utilizadas continham 96 poços, sendo 8 fileiras de poços, numeradas de A até H, e 12 colunas de poços, numeradas de 1 a 12. Foi colocado 50µl de caldo Müller Hunton em todos os poços da placa, 50µl do extrato de *Ocimum gratissimum* em 8 diferentes concentrações nas linhas horizontais (1 a 10 da placa), 10µl de cada cepa bacteriana diluída nos poços de cada coluna (de A até H) nos poços de 1 a 11 da placa e por último 20µl do revelador Trifenil Tetrazólico (TTC) em todos os poços. Realizou-se a leitura das placas através da coloração obtida, a qual indica: coloração avermelhada ou rosada para crescimento microbiano e coloração marrom demonstra que houve efeito inibitório da solução teste sobre o crescimento bacteriano. Os dados foram tabulados e os resultados expressos graficamente.

Staphylococcus aureus versus *Escherichia coli* no perfil de inibição por diferentes concentrações do extrato bruto de *Ocimum gratissimum*:

Os resultados obtidos tanto para *E. coli* quanto para *S. aureus* foram positivos, o que demonstrou que ambas as espécies são inibidas pelo extrato bruto de *Ocimum gratissimum*.

A Figura 5 evidencia que *Staphylococcus aureus* foi mais suscetível que *Escherichia coli* à atividade antimicrobiana da planta, dada a quantidade de amostras inibidas.

A inibição total das cepas de *S. aureus* foi obtida a partir da concentração de 25mg/mL do extrato bruto da planta. Para *E. coli* só se obteve inibição total na concentração de 100mg/mL. Ou seja, concentrações menores do extrato bruto de *Ocimum gratissimum* são capazes de inibir *E. coli* diferentemente de *S. aureus*, sendo mais eficazes sobre cepas de *S. aureus*.

Staphylococcus aureus versus *Escherichia coli* no perfil de inibição por diferentes concentrações do extrato bruto de *Ocimum gratissimum*

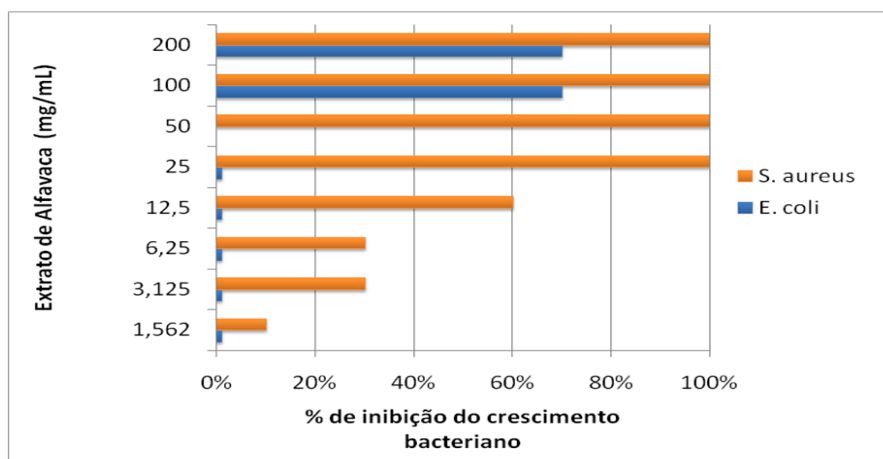


Figura 5: Comparação entre o perfil de inibição do crescimento das cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* frente as diferentes concentrações do extrato aquoso de *Ocimum gratissimum*. O gráfico representa percentualmente uma comparação entre a eficácia de inibição das cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* pelo extrato em suas diferentes concentrações, obtida através da análise dos aspectos colorimétricos das placas de diluição. As placas utilizadas continham 96 poços, sendo 8 fileiras de poços, numeradas de A até H, e 12 colunas de poços, numeradas de 1 a 12. Foi colocado 50µl de caldo Müller Hunton em todos os poços da placa, 50µl do extrato de *Ocimum gratissimum* em 8 diferentes concentrações nas linhas horizontais (1 a 10 da placa), 10µl de cada cepa bacteriana diluída nos poços de cada coluna (de A até H) nos poços de 1 a 11 da placa e por último 20µl do revelador Trifenil Tetrazólico (TTC) em todos os poços. Realizou-se a leitura das placas através da coloração obtida, a qual indica: coloração avermelhada ou rosada para crescimento microbiano e coloração marrom demonstra que houve efeito inibitório da solução teste sobre o crescimento bacteriano. Os dados foram tabulados e os resultados expressos graficamente.

Discussão

A resistência bacteriana é um problema de saúde pública. A cultura da população em se automedicar com antibióticos, aliada a outros fatores, proporcionou a alguns microrganismos a capacidade em desenvolverem resistência a um grande número de antibióticos.¹ A pesquisa por compostos provenientes de fonte renovável de fácil acesso e baixo custo, capazes de inibir a proliferação de microrganismos patogênicos com reduzidos efeitos colaterais faz-se necessária para conter uma possível endemia causada por cepas patogênicas resistentes aos atuais antimicrobianos disponíveis.¹⁴ A Etnofarmacologia tem

demonstrado ser um dos principais recursos para a problemática, uma vez que as plantas tem sido capaz de inibir a ação de microrganismos patogênicos causadores de doenças em seres humanos.¹⁸

O extrato antibacteriano de *Ocimum gratissimum* constitui uma perspectiva para obtenção de um antibiótico natural por apresentar evidente atividade antimicrobiana analisada por este trabalho, perante *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, através do método da microdiluição. Evidenciamos que o perfil de inibição do crescimento de *S. aureus* foi diretamente proporcional à concentração da Alfavaca. Enquanto que para *E. coli* houve um padrão de significativa eficácia nas doses mais altas (100 e 200 mg/mL).

Tais resultados condizem com a literatura usada como base para esse estudo, na qual a atividade antimicrobiana de diferentes extratos e óleo de *Ocimum gratissimum* foi demonstrada contra diferentes espécies bacterianas, dentre elas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.^{8-11,15}

Dias Filho *et al* testou o óleo de *Ocimum gratissimum* contra *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexineri*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiellasp.* e *Proteus mirabilis*. A atividade antimicrobiana do óleo foi maior sobre *S. aureus* foi maior do que qualquer outra bactéria testada. Esse mesmo estudo evidenciou que o mesmo óleo também possuía ação sobre membros da família Enterobacteriaceae, como a *Escherichia*.⁸

Adebolu *et al* testou o extrato de *Ocimum gratissimum* contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* e *Salmonella typhimurium*, e obteve o melhor perfil de inibição sobre as cepas de *Staphylococcus aureus*, seguida de uma inibição dez vezes menor sobre *Escherichia coli*.¹¹

Orafidiya *et al* mostrou que o extrato de óleo de *Ocimum gratissimum* foi ativo contra *E. coli* enteroagregante. Demonstrando portanto, que seria concebível que esse extrato possa ser usado para tratar casos de diarreia causados por esses organismos em indivíduos infectados.¹⁵

Diante tamanha importância das bactérias nos meios hospitalares e comunitários faz-se necessário o combate das infecções de forma adequada, visto que sua resistência aos antimicrobianos tem tomado proporções das quais ultrapassam o controle dos atendimentos de saúde mundiais.¹⁵⁻¹⁸

O presente trabalho traz uma perspectiva para avaliações futuras que possam demonstrar a utilização de *Ocimum gratissimum* como um novo método antibacteriano que possui baixo valor econômico, ausência de restrições ambientais e ação efetiva sobre o crescimento microbiano. Portanto, é imprescindível a realização de pesquisas científicas em busca da descoberta e síntese de novos e eficazes antibióticos para combater de forma mais eficaz esses agentes infecciosos, principalmente os multirresistentes aos antimicrobianos.

Conclusão

Como demonstrado em nosso trabalho e visto na literatura, a Alfavaca possui atividade antimicrobiana através de suas folhas, como testada pelo nosso trabalho, e vista em demais estudos pelo seu óleo essencial e demais componentes perante *E.coli* e *S.aureus*.

Para as cepas de *Staphylococcus aureus* o perfil de inibição do crescimento obedeceu a um padrão pouco variável entre doses aplicadas às placas, enquanto que para as cepas de *Escherichia coli* o perfil de inibição do crescimento foi diretamente proporcional à concentração do extrato.

Referências

- 1- Gelatti LC, Becker AP, Bonamigo RR, d'Azevedo PA. *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina: disseminação emergente na comunidade. *An Bras Dermatol.* 2009;84(5):501-6.
- 2- Moreira AC. Bactérias de infecção hospitalar [Internet] 2013 Mar [acesso em outubro 20]. Disponível em: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAfLdEAF/bacterias-infeccao-hospitalar>

- 3- Souza MP. Staphylococcus aureus resistente à oxacilina. Newslab [Internet]. 2011 Abr [acesso em 21 de Janeiro 2014];105(1):120-32.
- 4- Rossi F, Andreazzi D. Resistência bacteriana: interpretando o antibiograma. São Paulo: Atheneu; 2005.
- 5- Andriolo A. Guia de medicina ambulatorial e hospitalar: medicina laboratorial. São Paulo: Manole; 2005
- 6- Soares LA, Nishi CYM, Wagner LA. Isolamento de bactérias causadoras de infecções urinárias e seu perfil de resistência aos antimicrobianos. Rev Bras Med Farm Com.2006;2(6):84-92.
- 7- Haley RW, Culver DH, White JW, Morgan WM, Emori TG, Munn VP, et al. The efficacy of infection surveillance and control programs in preventing nosocomial infections in US. hospital. Am J Epidemiol. 1985;121:182-205.
- 8- Nakamura CV, Ueda-Nakamura T, Bando E, Melo AFN, Cortez DAG, Dias Filho BP. Antibacterial Activity of *Ocimum gratissimum* L. Essential Oil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999;94(5):675-8
- 9- Junaid SA, Olabode AO, Onwuliri FC, Okwori AE, Agina SE. The antimicrobial properties of *Ocimum gratissimum* extract son some selected bacterial gastrointestinal isolates. Afr J Biotechnol.2006;22(5):2315-21
- 10- Okigbo RN, Ogbonnaya UO. Antifungal effects of two tropical plant leaf extracts (*Ocimum gratissimum* and *Aframomum melegueta*) on post harvest yam (*Dioscorea* spp.) rot. Afr J Biotechnol.2006;9(5):727-31
- 11- Adebolu TT, Oladimeji SA. Antimicrobial activity of leaf extracts of *Ocimum gratissimum* on selected diarrhea causing bacteria in southwestern Nigeria. Afr J Biotechnol.2005;7(4):682-4
- 12- Arekemase MO, Kayode RMO, Ajiboye AE. Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of *Jatropha Curcas* Plantagainst Some Selected Microorganisms. Int J Biology. 2011;3(3):52-9
- 13- Hentz SM, Santin MC. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). Evidência Interdisciplinar. 2007;7(2):93-100.
- 14- Ramos RS, Sarmiento PA, Lins TH, Lúcio IML, Conserva LM, Bastos MLA. Atividade antimicrobiana in vitro dos extratos hexânico e etanólico das folhas de *Zeyheria tuberculosa*. Rev Rene. 2012;13(5):1015-24.
- 15- Offiah VN, Chikwendu UA. Antidiarrhoeal effects of *Ocimum gratissimum* leaf extract in experimental animals. J. Ethnopharmacol. 1999;68:327-330
- 16- Bebear C, Robertson J. Determination of the minimal inhibitory concentration. In: Tully JG, Razin S. (eds). Molecular and Diagnostic Procedures in Mycoplasmaology. San Diego: Academic Press; 1996;(2):189-97.
- 17- Bastião DWF. Epidemiologia e fatores de risco associados à colonização por VRE e MRSA em uma unidade de terapia intensiva em adultos [Dissertação]. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia; 2010.
- 18- Arango HG. Bioestatística: teórica e computacional: testes paramétricos. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2005. p.268-9.