



ISSN: 2230-9926

Available online at <http://www.journalijdr.com>

IJDR

International Journal of Development Research

Vol. 12, Issue, 11, pp. 60453-60455, November, 2022

<https://doi.org/10.37118/ijdr.25800.11.2022>



RESEARCH ARTICLE

OPEN ACCESS

RESINA INTEGRAL DO BÁLSAMO-DE-TOLU NÃO APRESENTA EFEITO BACTERICIDA OU BACTERIOSTÁTICO SOBRE A *ESCHERICHIA COLI*

Ewerton Alves Silva*, Kaillany Macedo Andrade, Renata do Socorro Lisboa Gonçalves, Monick Nielly Miranda Pinto, Maria Fernanda Pereira da Silva, Emilly Ingrid Santos Soares, Pedro Arthur Dias Soares, Vitória Mota Carvalho, Eduardo Soares dos Santos and Domingos Magno Santos Pereira

Department of Biomedicine, CEUMA University;

ARTICLE INFO

Article History:

Received 19th September, 2022

Received in revised form

23rd September, 2022

Accepted 17th October, 2022

Published online 30th November, 2022

KeyWords:

Atividade, Antimicrobiana, Balsamo-De-Tolu, Escherichia Coli.

*Corresponding author:

Plinio Regino Magalhães

ABSTRACT

A *Escherichia coli* (*E.coli*) é uma bactéria bacilar Gram-negativa presente na microbiota intestinal humana, no entanto, diversos sorotipos estão relacionados a doenças infecciosas intestinais e extra intestinais, podendo apresentar fatores de virulência ligados a resistência contra antibióticos. Neste contexto, o bálsamo-de-tolu (BDT) surge como uma planta com potencial antibacteriano, podendo representar uma fonte de moléculas antibacterianas. Assim, este trabalho buscou avaliar a atividade anti-*E. coli* do BDT. Para isto, foram realizados os testes de difusão em Ágar Mueller-Hinton e a concentração inibitória mínima (MIC) em placas de 96 poços. Observou-se que a planta testada não apresentou atividade antibacteriana sobre a *E. coli*. Portanto, sugere-se que a resina do BDT não apresenta atividade contra a bactéria em questões de concentrações testadas.

Copyright © 2022, Ewerton Alves Silva et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Citation: Ewerton Alves Silva, Kaillany Macedo Andrade, Renata do Socorro Lisboa Gonçalves, Monick Nielly Miranda Pinto et al. "Resina integral do bálsamo-de-tolu não apresenta efeito bactericida ou bacteriostático sobre a *Escherichia coli*.", *International Journal of Development Research*, 12, (11), 60453-60455.

INTRODUCTION

A *Escherichia coli* (*E.coli*) é uma bactéria bacilar gram-negativa presente na microbiota humana, podendo atuar tanto de forma comensal quanto patogênica. Como comensal habita principalmente a microbiota intestinal e causa diversos benefícios, participando das defesas naturais do intestino contra bactérias patogênicas e também produzindo moléculas biologicamente importantes para o hospedeiro, como a vitamina K; por outro lado, como agentes patogênicos, diversos sorotipos estão relacionados com várias formas de infecção e intoxicação alimentar, frequentemente observada em casos de gastroenterites que podem variar de leves a invasivos, onde a bactéria tem acesso a corrente sanguínea, podendo causar infecção renal e seps (MUELLER *et al.*, 2020). A virulência desta bactéria é ligada ao seu genoma e a capacidade de resistir e penetrar nas barreiras de defesa do organismo, além de apresentar resistência bacteriana a alguns antibióticos, que pode ser transmitida a outras bactérias através de transferência plasmidial (MUELLER *et al.*, 2020; SANTOS *et al.*, 2009). Levando em consideração os sinais clínicos do paciente e os fatores de virulência presentes na *E. coli*, são classificados 5 sorotipos relacionados a processos patológicos em humanos: *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) (MENG *et al.*, 2012). Formas extra intestinais de infecção são resultantes do movimento dos

microrganismos para fora do trato gastrointestinal, ocorrendo principalmente em infecções hospitalares. Dentre as doenças extra intestinais mais comuns estão as Infecções do trato urinário, abdominal, pneumonia, meningite, dentre outras; já as doenças intestinais estão relacionadas aos diferentes sorotipos e a infecção ocorre principalmente pela ingestão de bactérias por via fecal oral, proveniente de alimentos contaminados (MUELLER *et al.*, 2020). Um dos grandes problemas enfrentados no âmbito hospitalar ultimamente é a resistência antimicrobiana que as bactérias vêm adquirindo com o passar do tempo. O uso excessivo e inadequado de antibióticos pode ser classificado como um dos motivos pelos quais as bactérias vêm adquirindo esta característica. Ressalta-se que a *E. coli* particularmente é resistente a alguns antibióticos, como as penicilinas. (ALLOCATI *et al.*, 2013). Tendo em vista este problema enfrentado nos dias atuais, muitas plantas com potenciais efeitos terapêuticos têm sido indicadas como agentes antibacteriano, anti-inflamatório e antioxidante, como é o caso do bálsamo-de-Tolu (*Myroxylonbalsamum*), que é uma planta de grande porte pertencente ao grupo das leguminosas, encontrada principalmente na região da Amazônia e México. Esta espécie contém flores de cor esbranquiçada com frutos em vagem pequena. Diversas partes da planta podem ser utilizadas para fins medicinais, tais como folhas, flores, cascas do caule e frutos, no entanto, é a resina, que contém o óleo essencial, que vem chamando a atenção da comunidade científica, por ser rica em compostos químicos ativos cujo potencial farmacológico, em sua

grande maioria, ainda permanece por ser estudado (CARLOS *et al.*, 2013). Empiricamente o BDT é largamente utilizada pela medicina popular como antiespasmódico e para tratar diversos problemas de saúde, tais como cistite, uretrite, feridas cutâneas, asma, bronquite, dentre outros (PEREIRA *et al.*, 2004; ÁVILA *et al.*, 2013). Além disso, por ser utilizado na indústria alimentícia e farmacêutica, apresenta alto índice de segurança para estudos *in vitro* em animais (MELO *et al.*, 2015). Portanto, este trabalho buscou avaliar a atividade anti-*E. coli* desta planta.

METODOLOGIA

Disco difusão em ágar: A bactéria foi cedida pela bacterioteca da Universidade Ceumacampus São Luís-MA, Brasil. O teste de difusão foi realizado em placas de Ágar Mueller-Hinton. Para isto, inicialmente foi feito cultivo bacteriológico em Ágar Macconkey e incubado por 24 horas a 37°C para crescimento da bactéria a ser testada. Após esse período, colônias bacterianas foram diluídas em tampão salino fosfatado (PBS) em placas de 96 poços e padronizadas em leitor de ELISA de acordo com a densidade óptica da escala de turbidez de McFarland, sendo padronizado o valor de 0,5 D.O. Em seguida, em uma placa de Ágar Mueller-Hinton, foram feitos poços para testar diferentes concentrações da resina, sendo testadas as doses de 100mg/ml e 200mg/ml.

Concentração Inibitória Mínima: A concentração inibitória mínima (CIM) foi performada através da diluição seriada de diferentes concentrações da droga em placas de 96 poços pela técnica de microdiluição em meio de cultivo líquido. Para isto, adicionou-se 150µl do caldo Mueller-Hinton nos poços, em seguida, 50µl do composto com concentração de 200mg/ml, então foi realizada a série de diluições até 0mg/ml. Em seguida foram adicionados 10µl da solução bacteriana na mesma D.O testada anteriormente em todos os poços e a placa foi incubada por 24 horas a 37°C. No dia seguinte foi pipetado em cada poço 30µL do indicador de óxido-redução resazurina sódica diluída a 0,3% em água destilada; a placa foi novamente incubada por 40 minutos e a mudança da cor do corante de roxo para rosa foi utilizada como indicativo de crescimento bacteriano.

RESULTADOS

Disco difusão em ágar: No procedimento de difusão em Ágar, também conhecido por difusão em placa (Elissa A., *et al.*, 2008), a bactéria *Escherichia coli* foi desafiada contra uma droga (BDT) em meio de cultura sólido (Ágar Mueller-Hinton). Esperava-se que houvesse modulação do crescimento e ocorresse a formação do halo de inibição na placa, sendo então constatado o efeito antibacteriano do bálsamo-de-tolu sobre a *E. coli*. No entanto, foi observado que a concentração da droga testada não foi capaz de inibir o crescimento bacteriano contra a *E. coli*, como mostra a Figura 1.



Figura 1. DISCO DIFUSÃO EM ÁGAR. Placa de Ágar Mueller-Hinton com poços feitos no meio de cultura com auxílio de canudos de plástico estéril, contendo as seguintes concentrações do Balsamo de tolu: 100mg/ml e 200mg/ml. Não houve formação do halo de inibição bacteriana

Concentração Inibitória Mínima: Para confirmar o resultado anterior, foi realizada a CIM em placas de 96 poços. Este teste visa constatar a menor concentração da droga que é capaz de inibir o crescimento bacteriano. Corroborando com os resultados anteriores, neste teste as concentrações do BDT também não foram capazes de inibir o crescimento da *E. coli*, como mostra a Figura 2.

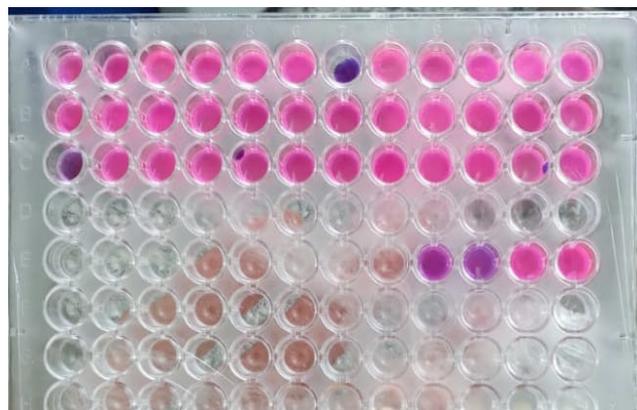


Figura 2. CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (MIC). Houve crescimento bacteriano em todos os poços, evidenciado pela mudança na cor do corante utilizado, de roxo para rosa, resultado do metabolismo das bactérias vivas

DISCUSSÃO

A resina do bálsamo de tolu é composta principalmente de substâncias insolúveis em água e diversos desses compostos já foram identificados, tais como o cinamaldeído e ácidos cinâmicos, substâncias amplamente relatadas na literatura por suas propriedades terapêuticas já testadas, apresentando efeitos antimicrobianos, anti-inflamatórios e antioxidantes (MENDES *et al.*, 2016; RUWIZHI and ADERIBIGBE *et al.*, 2020). Com o aumento de novas doenças, muitas delas causadas por bactérias, novos testes e estudos vêm sendo realizados com a finalidade de descobrir tratamentos eficientes contra essas patologias. Nesse contexto a bactéria *E. coli* representa um importante patógeno, uma vez que apresenta uma grande plasticidade genética, podendo adquirir e transmitir novos fatores de resistência e virulência. Por mais que possa viver de forma comensal nos seres humanos, esta bactéria pode causar diversos tipos de infecções intestinais, invasivas e não invasivas, além de também estar relacionada com quadros de sepse, uma doença que apresenta alta taxa de mortalidade nas Unidades de Terapia Intensiva (UTI) (HERON, 2013). Nos testes realizados neste trabalho não foi possível observar atividade antibacteriana do BDT, no entanto, diversos fatores devem ser observados para uma melhor conclusão desses achados, tais como as concentrações testadas e as características físico-químicas da resina, sendo um composto de difícil diluição em solução salina ou PBS, mesmo com a adição de dimetilsulfóxido (DMSO). Isso resulta em pouca difusão da droga no caldo de cultivo, o que pode ter interferido na atividade dos compostos químicos. Uma alternativa para este viés é a testagem de frações da droga, extraídas através da ação de diferentes solventes. Os achados deste artigo são descritos pela primeira vez na literatura, portanto, não existem trabalhos semelhantes do BDT com a bactéria aqui testada, sendo necessários diversos outros estudos para constatar ou refutar as informações aqui publicadas.

CONCLUSÃO

Sendo assim, com base nos estudos realizados, observou-se que a resina do bálsamo-de-tolu não apresentou atividade antibacteriana sobre a *Escherichia Coli* nas concentrações variando entre 0 e 200mg/ml. Os dados foram confirmados através dos testes realizados em difusão em Ágar e MIC. No entanto, novos estudos com novas concentrações e novas metodologias são necessários para comprovar esses dados. Além disso, frações específicas da droga podem

apresentar melhores resultados, uma vez que se trata de uma resina não solúvel em soluções salinas, dificultando a difusão e o teste de MIC.

REFERÊNCIAS

- MUELLER, Matthew; TAINTER, Christopher R. *Escherichia coli*. StatPearls [Internet], 2022.
- ALLOCATI, Nerino *et al.* *Escherichia coli* in Europe: an overview. *International journal of environmental research and public health*, v. 10, n. 12, p. 6235-6254, 2013.
- ÁVILA, L. C. Índice terapêutico fitoterápico-ITF. *Ervas medicinais*, v. 2, 2013.
- BAROCHIA, Amisha *et al.* Eritorantranasodium (E5564) treatment for sepsis: review of preclinical and clinical studies. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, v. 7, n. 4, p. 479-494, 2011.
- CARLOS, Leandro *et al.* Crescimento e nutrição mineral de mudas de barbatimão sob efeito da omissão de nutrientes. *Floresta*, v. 43, n. 4, p. 569-578, 2013.
- GONÇALVES, Jacqueline Miranda *et al.* Atividades biológicas e composição química dos óleos essenciais de *Achyrocline satureioides* (Lam) DC. E *Ageratum conyzoides* L. encontradas no semiárido baiano. 2015.
- HERON, Melonie P. Deaths: leading causes for 2010. 2013.
- MENDES, Saulo JF *et al.* Cinnamaldehyde modulates LPS-induced systemic inflammatory response syndrome through TRPA1-dependent and independent mechanisms. *International immunopharmacology*, v. 34, p. 60-70, 2016.
- MENG, Jianghong *et al.* Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Food microbiology: Fundamentals and frontiers*, p. 287-309, 2012.
- PEREIRA, Fabiana Quartiero *et al.* Estudo da eficácia antitussígena e expectorante de preparação fitoterápica contendo fluido de guaco, poligala, ipecuanha, acônito, alcoolatura de agrião e solução concentrada de bálsamo de tolú (Melagrião). Salão de Iniciação Científica (16.: 2004: Porto Alegre). Livro de resumos. Porto Alegre: UFRGS, 2004.
- RUWIZHI, Ngonidzashe; ADERIBIGBE, BlessingAtim. Cinnamic Acid Derivatives and Their Biological Efficacy. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 16, p. 5712, 2020.
- SANTOS, Ana Carolina de Mello *et al.* A virulência de *Escherichia coli* patogênica extra-intestinal (ExPEC) em relação à idade e ao sexo do hospedeiro. *Mundo saúde (Impr.)*, p. 392-400, 2009.
- MELO, Antônio Maria Martins. Usos medicinais das plantas em Amato Lusitano. *Humanismo e Ciência: Antiguidade e Renascimento*, p. 275-302, 2015.
