
**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Momordica charantia* L,
CONTRA *Staphylococcus aureus***

Thiago Henrique Daniel do Nascimento¹

Angelita Aparecida Ribeiro da Silva²

Ariane Mayumi Saito Bertão³

Mirian Ribeiro Alves Maiola⁴

RESUMO

Staphylococcus aureus são bactérias naturalmente presentes em cerca de um terço da população. Estas têm sido relatadas como a principal causa de infecções nosocomiais na América Latina, tendo a incidência crescente também na comunidade. O padrão de virulência e as dificuldades encontradas no tratamento das infecções causadas por essas bactérias têm feito da sua disseminação um grave problema de saúde pública. Diante disso, o objetivo deste estudo foi realizar extrações utilizando o aparelho de Soxhlet com os solventes Hexano e Etanol para obter os extratos polares e apolares da planta *Momordica charantia* L., realizou-se testes microbiológicos reafirmando que a mesma possui propriedades exclusivas, podendo ser utilizadas como medidas fitoterápicas no combate de *S. aureus*, sendo então uma alternativa rentável para a saúde pública, uma vez que a planta é de fácil cultivo, o que levaria a custos inferiores com medicação quando comparados aos fármacos atualmente encontrados no mercado.

31

Palavras-chaves: *Momordica charantia*. *Staphylococcus aureus*. Fitoterapia. Antibiótico.

ABSTRACT

Staphylococcus aureus are naturally occurring bacteria in about a third of the population. These have been reported as the main cause of nosocomial infections in Latin America, with a growing incidence in the community. The pattern of virulence and the difficulties encountered in the treatment of infections caused by these bacteria have made its dissemination a serious public health problem. Therefore, the objective of this study was to perform extractions using the Soxhlet apparatus with the Hexane and Ethanol solvents to obtain the polar and apolar extracts of the *Momordica charantia* L. plant. Microbiological tests were carried out reaffirming that it possesses exclusive properties and can be used as herbal remedies in the fight against *S. aureus*, being a cost-effective alternative for public health, since the plant is

¹ Graduado em Biomedicina pelo Centro Universitário Filadélfia – UniFil.

² Docente Mestra do curso de Biomedicina no Centro Universitário Filadélfia – UniFil.

³ Docente Mestra do curso de Biomedicina no Centro Universitário Filadélfia – UniFil.

⁴ Docente Doutora do curso Agronomia no Centro Universitário Filadélfia – UniFil.

easy to cultivate, which would lead to lower costs with medication when compared to drugs currently found in the market.

Keywords: *Momordica charantia*. *Staphylococcus aureus*. Phytotherapy. Antibiotic.

1 INTRODUÇÃO

A bactéria *Staphylococcus aureus* é encontrada em grande parte da população, em regiões nasais e na pele de pessoas saudáveis. Quanto a sua morfologia, é esférica, não possui esporos pertencendo ao grupo dos cocos Gram-positivos, catalase-positivos. Essa bactéria pode apresentar-se de diversas formas, que vão desde isolados, aos pares, em cadeias curtas ou agrupados irregulares (com aspecto semelhante a um cacho de uvas). Devido à sua divisão celular, que ocorre em três planos perpendiculares, seu tamanho varia entre 0,5 a 1,5µm. *S. aureus* são caracterizados por serem imóveis, anaeróbios facultativos e por possuírem capacidade de crescer em meios com alta concentração de sal, podem de produzir diversas proteínas extracelulares associadas às células do hospedeiro, estas são muito importantes para o estabelecimento da bactéria no tecido afetado (LIMA *et al.*, 2014).

32

S. aureus foi descrito pela primeira vez em 1880, em abscessos cirúrgicos, pelo cirurgião escocês Alexandre Ogston e atualmente é um dos micro-organismos, mais comuns nas infecções piogênicas em todo o mundo. O gênero *Staphylococcus* pertence à família Micrococaccae, juntamente como os gêneros *Planococcus*, *Micrococcus* e *Stomatococcus*. O gênero *Staphylococcus* possui 33 espécies, sendo que 17 delas podem ser isoladas de amostras biológicas humanas. Geralmente, esse gênero faz parte da microbiota da pele humana e de outros sítios anatômicos. A espécie de maior interesse médico, principalmente em ambiente nosocomial, é *S. aureus*, que está frequentemente relacionado com diversas infecções em seres humanos (BONET *et al.*, 2015).

Dentre as diversas características de *S. aureus* uma delas é a sua cápsula de polissacarídeo que reveste a camada mais externa da parede celular. Já foram identificados 11 sorotipos capsulares de *S. aureus*, sendo os sorotipos 6 e 7 os mais associados às infecções em seres humanos. A cápsula pode inibir a fagocitose bacteriana ao encobrir as opsoninas, aumentando assim a virulência e a capacidade de invasão dos tecidos e da corrente sanguínea, a partir de um foco periférico (LIMA *et al.*, 2015). A distribuição de *S.*

aureus é muito ampla, visto que essa bactéria é significativamente capaz de resistir à dessecação e ao frio, podendo permanecer viável por longos períodos sem partículas de poeira. Esse micro-organismo pode ser encontrado no ambiente de circulação do ser humano, sendo o próprio homem seu principal reservatório. *Staphylococcus aureus* é a bactéria mais comum em infecções ósseas, artrites sépticas, infecções de próteses (SANTOS *et al.*, 2007).

Em alguns casos podem também causar infecções alimentares, pois possuem capacidade de produção de exotoxinas durante o crescimento em alimentos que estão contaminados, em alguns casos estão relacionadas com pneumonia nosocomial, e ainda, por fazer parte da microbiota da pele oferecem risco a pacientes portadores de cateter, podendo migrar para a corrente sanguínea e causar bacteremia, principalmente se a microbiota abrigar cepas resistentes à meticilina chamados de *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina (MRSA), além disso traz riscos para pacientes diabéticos, que fazem diálise, queimados e HIV-positivos, causam vários processos infecciosos que vão desde infecções cutâneas crônicas até infecções sistêmicas que podem ser fatais (BONET *et al.*, 2015).

Cada vez mais, bactérias desenvolvem mecanismos de resistência contra antibióticos, a velocidade entre a produção de medicamentos infelizmente é menor que a velocidade de mutação destes micro-organismos, o que destaca a importância da produção de fármacos com capacidade antimicrobiana, faz-se necessário estudos e testes de produtos, plantas e compostos com o intuito de fornecer para a população novos antibióticos (AFONSO *et al.*, 2007)

O avanço da indústria farmacêutica estimula o desenvolvimento de tratamentos curativos e de medicamentos cada vez mais eficientes, este avanço só foi possível graças aos estudos feitos utilizando plantas medicinais como matéria prima. A fitoterapia é utilizada em maioria principalmente nos países em desenvolvimento, segundo a OMS países como a África onde o acesso a saúde básica é escasso, cerca de 80% da população utiliza da medicina alternativa, o consumo de plantas para fins medicinais é relatado desde os tempos pré-históricos (MOREIRA *et al.*, 2011).

Arruda *et al.*, (2009) enfatiza que o desenvolvimento tecnológico e a evolução da ciência em relação aos métodos de análise permitiram uma seleção de plantas com atividades terapêuticas, e, a partir de estudos químicos os seus princípios ativos foram isolados, testes

foram realizados no organismo animal onde houve comprovação da atividade curativa, preventiva e terapêutica de suas propriedades, desde então estudos são cada vez mais aprofundados, pesquisas voltadas á encontrar ação destas propriedades contra patologias que ainda não possuem tratamento barato ou que a medicação é até então inexistente.

A planta *Momordica charantia L*, conhecida como melão-de- são-caetano, pertencente à família das Curcubitáceas, planta herbácea rasteira, trepadeira, possui vários ramos, suas flores são amarelo-pálidas ou brancas, bastante comum em terrenos abandonados e em climas topicais, é originária do leste indiano e sul da china. O fruto possui característica oblonga, se assemelhando a um pepino pequeno, é verde quando imaturo, e muda para uma tonalidade alaranjada quando está maduro. Estudos demonstram também que a *Momordica charantia L* como planta medicinal pode ser indicada para diabetes, queimaduras, uma vez que possui grande capacidade cicatrizante, pode ainda, inibir a corticotropina, possui ação como vermífugo e antimicrobiano. O melão- de-são-caetano contém uma grande quantidade de metabólitos secundários, dentre os metabólitos descritos destacam-se a tricosantina, momordicinas, triterpenos, esteróides, saponinas, flavonóides, taninos, triterpenosglicosidados, açúcar redutores e ácidos livres, e alto teor de ferro assimilável em sua composição química (NETO *et al.*, 2000).

34

2 OBJETIVO

O trabalho se baseia na realização de testes laboratoriais microbiológicos e químicos que visam extrair os princípios ativos polares e apolares da planta *Momordica charantia L* a fim de demonstrar sua capacidade antimicrobiana frente *S. aureus*.

3 METODOLOGIA

O experimento foi realizado no laboratório de Microbiologia Clínica e no Centro Universitário Filadélfia – UNIFIL com algumas etapas do experimento realizadas no laboratório de Química da Universidade Estadual de Londrina – UEL, os quais se enquadram nas exigências necessárias para a realização dos procedimentos.

3.1 Obtenção do extrato de *Momordica charantia L*

A obtenção do extrato bruto de *Momordica charantia L* tomou como base a metodologia descrita por LUPE, BARATA (2007) a fim de obter-se dois tipos de extratos da planta, o etanólico e o hexânico, onde o primeiro tem a capacidade de extrair os princípios ativos polares da planta e o segundo os compostos apolares.

Foram utilizadas folhas, galhos, sementes e a casca de *M. charantia L* as quais foram coletadas na zona rural da cidade de Londrina – PR no mês de Junho de 2017. Os exemplares da espécie foram separados em porções isoladas de folhas, sementes, galhos e a casca, em seguida foram postos separadamente em sacos de papel em uma estufa 60° C por 48 horas no laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Filadélfia, após terem sido higienizadas em solução de hipoclorito de sódio à 5% (5000ppm).

As porções da planta após serem secas de acordo com a metodologia utilizada foram então trituradas em um triturador Tecnal modelo TC- 65A/2 previamente higienizado com Hipoclorito de sódio a 5% seguido de álcool 70% obteve-se então as frações da planta seca e triturada. Sacos plásticos específicos para autoclave foram esterilizados e utilizados para o armazenamento do material triturado (Figura 1).

35

Figura 1 - Fotografia identificada das porções obtidas a partir da planta *Momordica charantia L* seca



Fonte: autor do trabalho (2017)

Para obter-se o extrato etanólico e hexânico do material triturado e seco, foi necessária a utilização do aparelho de Soxhlet, utilizando os seguintes solventes:

Hexano: Um solvente apolar é um hidrocarboneto alceno com a fórmula química $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$, o prefixo “hex” refere-se aos seus seis átomos de carbono, e a terminação “ano” indica que seus carbonos estão conectados com ligações simples. Este solvente foi utilizado para extrair tudo que for apolar das amostras da planta (GARDEN, 2013).

Etanol: Um solvente polar e pode ser denominado também como álcool etílico, sua fórmula química é $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ou $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$, é uma substância orgânica obtida a partir da fermentação de açúcares, hidratação de etileno ou de redução de acetaldeído. Este solvente foi utilizado para extrair os compostos polares das amostras da planta (GARDEN, 2013).

Foi necessário papel filtro para embalar 1g de cada amostra triturada, tendo então no final, oito parcelas embaladas separadamente, sendo quatro para extração com etanol e quatro para extração com hexano. No aparelho de Soxhlet utilizou-se 200ml de solvente, ficando então, 1g de amostra para 200ml de solvente, estabelecendo-se um tempo de extração exaustiva e ininterrupta de cinco horas, tendo por fim os extratos hexânicos e etanólicos líquidos.

É necessário a dissociar o solvente do extrato, para isso foi utilizado um evaporador rotativo modelo MA120 com banho na temperatura de 60°C , após separar o solvente, o extrato bruto foi ressuscitado em 10ml de NaCl na concentração de 0,9% e 10ml de Tween 20 na concentração de 0,5% de acordo com a metodologia de Pereira (2010).

3.2 Antibiograma

O antibiograma foi realizado pelo método de disco-difusão (Kirby-Bauer), descrito por (BARBOSA; ZANIN, 2010).

As colônias de cepa padrão de *S. aureus* NEWP 0023 foram gentilmente cedidas pelo Laboratório de Microbiologia Clínica da UniFil. O procedimento consiste no preparo de uma suspensão de bactérias de cultivo jovem e na inoculação desta suspensão na superfície de uma placa de Agar Mueller Hinton. Para realizar a inoculação foi necessário preparar a solução de bactérias comparando com a escala 0,5 de turvação de

Mcfarland, posteriormente são adicionados os discos de papel impregnados com antimicrobianos sendo eritromicina (15 µg), clindamicina (2 µg), rifampicina (5 µg), nitrofurantoína (300 µg), gentamicina (10 µg), vancomicina (30 µg) ciprofloxacino (5 µg), amicacina (30 µg) e penicilina (6 µg / 10 IU). Após a incubação em estufa, é analisado o padrão de crescimento ou inibição ao redor de cada disco, sendo então medido o tamanho de cada halo e o resultado pesquisado em tabelas apropriadas segundo a espécie bacteriana em análise (KIRBY; BAUER, 2017).

Foi necessário também, realizar um teste de esterilidade dos extratos de *Momordica charantia*, para isso, em uma placa com Agar Mueller Hinton foram depositados duplicatas de 20uL das soluções extratos, avaliado em 24 horas para comprovar a ausência de microorganismos. Depois de confirmado a esterilidade dos extratos, estes entraram em contato com o *S. aureus* já crescida em toda a placa de petri, a aplicação foi em gotas de 20uL, sendo uma gota de cada extração feita totalizando 8 gotas ou 160uL considerando um volume total.

Como controle positivo foi realizado um antibiograma com antibióticos utilizados na rotina clínica, conforme preconizado pelo Eucast (2016).

37

4 RESULTADOS E DISCUSÕES

Tabela 1 - Tamanho dos halos de inibição de antibióticos

Antibiótico	Halo de inibição		Halo padrão EUCAST (mm)
	em mm para <i>S. aureus</i> (mm)	Interpretação	
Eritromicina	10	Resistente	22-30
Clindamicina	12	Resistente	24-30
Rifampicina	28	Sensível	26-34
Nitrofurantoína	28	Sensível	18-22
Gentamicina	26	Sensível	19-27
Vancomicina	20	Sensível	17-21
Ciprofloxacino	31	Sensível	22-30
Amicacina	27	Sensível	20-26
Penicilina	15	Resistente	26-37

Gráfico 1 - Comparação entre os diferentes halos de inibição de crescimento de *Staphylococcus aureus*.

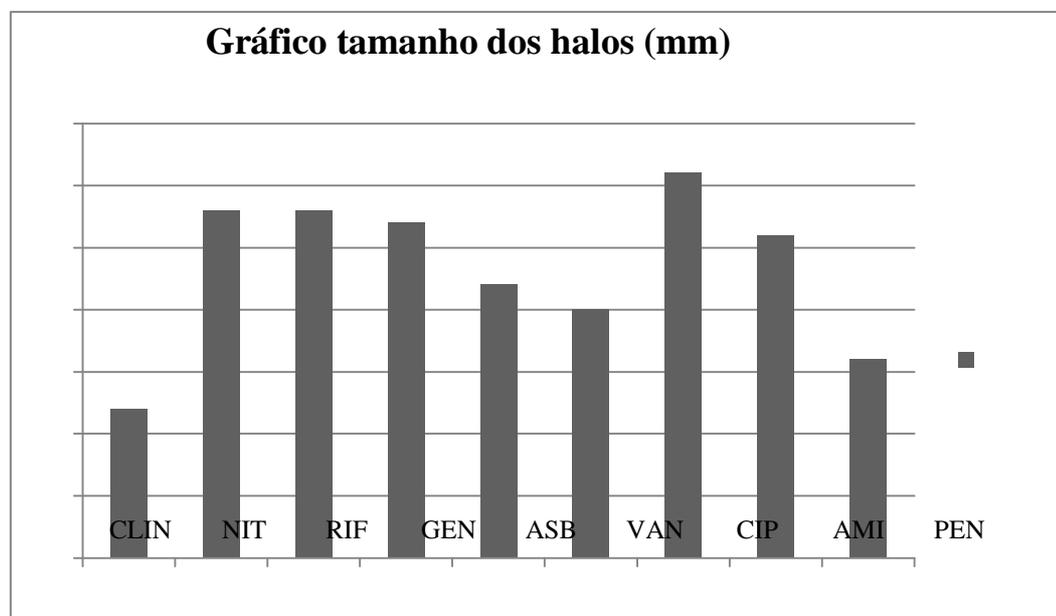
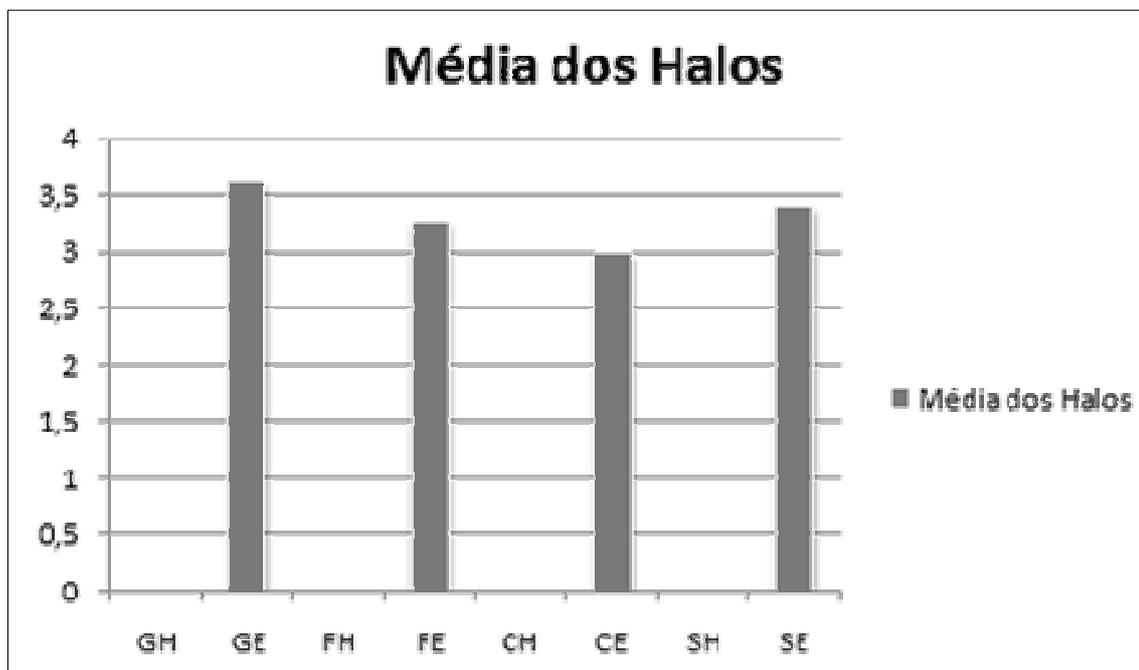


Tabela 2 - Comparação entre os halos de inibição dos extratos de *Momordica charantia L.*

	Folha Hexano	Folha Etanol	Galho Hexano	Galho Etanol	Casca Hexano	Casca Etanol	Semente Hexano	Semente Etanol
Concentração	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Tamanho do halo (mm)	0	34	0	37	0	31	0	35
Classificação	R	S	R	S	R	S	R	S

Gráfico 2 - Comparação dos halos de inibição presentes no teste dos extratos.



Observou-se a presença ou ausência de halos de inibição de crescimento em torno das gotas de *Momordica charantia L.* Onde houve positividade, a zona clara de inibição ao redor da gota foi medida em milímetros utilizando uma régua milimetrada. Compararam-se as medidas com a dos halos de antibióticos conhecidos (Tabela 1 e 2), porém não é possível classificar a bactéria nos parâmetros de Resistente (R), Intermediária (I) ou Sensível (S) ao antimicrobiano, é possível apenas, dizer que *S. aureus* foi sensível ou resistente devido a presença do halo.

No procedimento, utilizaram-se as soluções extratos na concentração de 100%, aplicadas diretamente sobre as placas, onde foi observado a presença de halos de inibição.

A medicina tradicional mostra-se ineficiente em alguns aspectos relacionados às infecções causadas por um número grande de microrganismos existentes. Os resultados positivos obtidos neste teste de ação antimicrobiana do extrato de *M. charantia L* na concentração bruta reafirma publicações de autores que já defendiam o potencial farmacológico ativo desta planta medicinal (PONZI *et al.*, 2009). Os resultados apresentados indicam sensibilidade dos *Staphylococcus aureus* à *Momordica charantia L* em extrações

alcoólicas, porém observou-se resistência bacteriana ao extrato hexânico da planta, acredita-se que não há compostos antimicrobianos dentre os produtos hexânicos de *M. charantia*.

As atividades evidenciadas pelo extrato na concentração bruta sob a bactéria *S. aureus*, são representados na Tabela 2. Os halos de inibição do extrato de *M. charantia* frente ao micro-organismo mostram um potencial antimicrobiano, tendo os extratos etanólicos da folha (34mm), galho (37mm), casca (31mm) e semente (35mm) como destaque quanto a ação antibiótica, em contrapartida não houve aparecimento de halo nos extratos feitos a partir do hexano.

O baixo custo das plantas medicinais e baixos efeitos colaterais justificam sua aplicação de acordo com PONZI *et al.* As medidas preventivas e curativas de uso de produtos de origem vegetal, como extrato de *M. charantia L.*, podem desempenhar importante função no sentido de auxiliarem tratamento em patologias de origem bacteriana, constituindo-se em uma alternativa a fim de vencer as resistências aos micro-organismos.

4 CONCLUSÃO

É necessário mais estudos, a fim de determinar a concentração mínima inibitória (MIC), fazendo diluições do extrato da planta, nos experimentos realizados foi demonstrado que o extrato etanólico, ou seja, os princípios ativos polares de *M. charantia L.* foram eficazes, inibindo a cepa estudada de *Staphylococcus aureus*, sugerindo a utilização dessa substância como meio alternativo de baixo custo no tratamento das infecções relacionadas a este microorganismo, e, assim, justificando seu desenvolvimento tecnológico farmacêutico.

REFERÊNCIAS

ALONSO, JORGE R. **Fitomedicina**: curso para profissionais da área da saúde. São Paulo: Pharmabooks, 2008. p 41 -53.

ALMEIDA, E. M. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, [s.l.], v. 81, n. 3, p.218-225, set. 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657001192012>.

BONET, C. M; LOZANO, S. A; GATIUS, J. R. Prevalencia de infección por *Staphylococcus aureus* resistente a metilina en heridas crónicas en atención primaria de Lleida. Estudio retrospectivo. **Gerokomos**, Barcelona, v. 26, n. 4, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **A Fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisas de Plantas Mediciniais da Central de Medicamentos**. Brasília, DF, 2006. Disponível em: <https://goo.gl/rNfQ3T>. Acesso em: 16 jul. 2017.

BrCAST - Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos. **Teste de sensibilidade aos antimicrobianos, método de disco difusão**. 2017. Disponível em: <http://brcast.org.br>. Acesso em: 20 jun. 2017

CARVALHO, A. F. Avaliação da atividade antibacteriana de extratos etanólico e de ciclohexano a partir das flores de camomila (*Matricaria chamomilla L.*); **Rev. Bras. Plantas Med**, Campinas, v.16, n.3, p.521-526, 2014.

CORDEIRO, L. N; ATHAYDE, A.C.R; VILELA, V.L.R; COSTA, J.G.M. SILVA, W.A; ARAUJO, M.M; RODRIGUES, O.G. Efeito in vitro do extrato etanólico das folhas do melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia L.*) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos. **Rev. Bras. Plantas Med.**, Botucatu, v. 12, n. 4, p.421-426, 2010.

41

COUTINHO, H. D. M. et al. **Effect of *Momordica charantia L.* in the resistance to aminoglycosides in methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*. Comparative Immunology, Microbiology And Infectious Diseases**, [s.l.], v. 33, n. 6, p.467-471, dez. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cimid.2009.08.001>.

FERRO, DEGMAR. **Fitoterapia: conceitos clínicos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 502 p.

LIMA, M. F. P; BORGES, M. A; PARENTE, R. S; VICTÓRIA JUNIOR, R. C.; OLIVEIRA, M. E. ***Staphylococcus aureus* e as infecções hospitalares** – revisão de literatura; v. 21, n. 1, p. 32-39, jan./mar. 2015.

LUPE, Fernanda Avila. **Estudo da composição química de óleos essenciais de plantas aromáticas da Amazonia**. 2007. 126 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, 2007. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=vtls000432869>. Acesso em: 29 mar. 2017.

NALOCH, B. **Apostila de fitoterapia**. Disponível em: <http://stoa.usp.br/briannaloch/files/-1/14187/Apostila-de-FitoterapiaPreparacao-e-Usos-de-Ervas.pdf>. Acesso em: 18 maio 2017.

OLIVEIRA, D. M. S.; LUCENA, E. M. P. O uso de plantas medicinais por moradores de Quixadá-Ceará. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v. 17, n. 3, p. 407-412, set. 2015. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-

05722015000300407&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 20 out. 2017.

PEREIRA, A. V.; TREVISAN, L. F. A.; PEREIRA, M. S. V.; PEREIRA, L. P.; PEREIRA, E. Q.; PEREIRA, M. V.; RODRIGUES, O. G. Estudo comparativo dos extratos de *momordica charantia linn.* e *psidium guajava linn.* sobre linhagens de *staphylococcus aureus* de origem bovinas isoladas no estado da Paraíba. **Agropecuária Técnica**, Areia, PB, v.31, n. 2, p. 174-179, 2010.

PONZI, E. A. C.; OLIVEIRA, T. L.; MORAIS, I. A. F.; SILVA, J. J.; SOUZA, I. A.; PSIOTTANO, M. N. C.; XAVIER, H. S. Atividade antimicrobiana do extrato de *Momordica charantia L.* **Rev. Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-fac.**, Camaragibe v.10, n.1, p. 89-94, jan./mar. 2010.

SALES, M.; SILVA, T. M. Staphylococcus aureus meticilina resistente: um desafio para a saúde pública. **Acta Biomedica Brasiliensia**, [s.l.], v. 3, n. 1, jun. 2012.

SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C. Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Bras Patol MedLab**, [s.l.], v. 43, n. 6, p. 413-423, dez. 2007.

SILVA, C. E. S.; SANTOS, O. J.; RIBAS-FILHO, J. M.; TABUSHI, F. I.; KUMO, M. H.; JUKONIS, L. B.; CELLA, I. F. Effect of *Carapa guianensis* Aublet (Andiroba) and *Orbignya phalerata* (Babassu) in colonic healing in rats. **Rev. Col. Bras. Cir.**, Curitiba, v. 42, n. 6, p. 399-406, 2015.

42

SILVEIRA, L. M. S.; OLEA, R. S. G.; MESQUITA, J. S.; CRUZ, A. L. N.; MENDES, J. C. Metodologias de atividade antimicrobiana aplicadas a extratos de plantas: comparação entre duas técnicas de ágar difusão. **Rev. Bras. Farm.** [s.l.], v. 90, n. 2, p. 124-128, 2009.