



VI CONGRESSO LATINO-AMERICANO  
X CONGRESSO BRASILEIRO  
V SEMINÁRIO DO DF e ENTORNO  
**12-15 SETEMBRO 2017**  
**BRASÍLIA- DF, BRASIL**

**Tema Gerador 9**

Manejo de Agroecossistemas  
e Agricultura Orgânica



## **Avaliação preliminar da atividade antibacteriana do extrato etanólico das folhas de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. frente as cepas Gram-positiva e Gram-negativa**

*Preliminary evaluation of the antibacterial activity of the leaves of Lippia alba (Mill.) N.E. Br. ethanolic extract against Gram-positive and Gram-negative strains*

FRANÇA, Suelen Oliveira; TELES, Simone; SILVA, F.; EVANGELISTA-BARRETO, Norma Suely; PIMENTA, Maria Gardenny Ribeiro Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Rua: Rui Barbosa, <sup>170</sup>,

Campus Universitário, CEP: 44380-000, Cruz das Almas-BA, [suelem\\_\\_franca01@hotmail.com](mailto:suelem__franca01@hotmail.com);  
[telessimone@gmail.com](mailto:telessimone@gmail.com); [franceli@ufrb.edu.br](mailto:franceli@ufrb.edu.br); [nsevangelista@ufrb.edu.br](mailto:nsevangelista@ufrb.edu.br);  
[gardenny.pimenta@ufrb.edu.br](mailto:gardenny.pimenta@ufrb.edu.br)

**Tema Gerador:** Manejo de Agroecossistemas e Agricultura Orgânica

### **Resumo**

O objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antibacteriana de extrato etanólico bruto obtido das folhas de *Lippia alba*, frente as cepas Gram-positiva (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538) e Gram-negativa (*Escherichia coli* ATCC 25922). A atividade antibacteriana do extrato bruto foi avaliada por método de difusão em disco frente as cepas Gram-positiva e Gram-negativa. Os Resultados demonstraram atividade do extrato frente a cepa Gram-positiva, com halo de inibição de 7 mm de diâmetro. Para a bactéria Gram-negativa não houve atividade antimicrobiana. O extrato testado apresentou atividade antibacteriana frente a cepa Gram-positiva e potencial para otimização do método de extração e solubilização do extrato.

**Palavras-chave:** Atividade antimicrobiana; Cidreira; Técnica de difusão em disco.

### **Abstract**

The aim of this study was to evaluate the antibacterial activity of the ethanolic extract of *Lippia alba* leaves against Gram-positive strain (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538) and Gram-negative strain (*Escherichia coli* ATCC 25922). Antibacterial activity was performed by disk diffusion method. The results showed activity of the extract against the Gram-positive strain, with measures of 7 mm diameter of the bacterial growth inhibition area formed around the disc with extract. For Gram-negative strain there was no antimicrobial activity. The extract tested showed antibacterial activity against Gram-positive strain and potential to optimization the extract extraction and solubilization method.

**Keywords:** Antimicrobial activity; Cidreira; Disk diffusion technique.

### **Introdução**

Agricultura brasileira intensificou o uso de insumos químicos através da inserção maciça de pesticidas nas lavouras. O uso indiscriminado destes insumos pode resultar no aparecimento de patógenos resistentes, patógenos reemergentes, surtos de novos patógenos, toxicidade a organismos não alvos, eliminação de micro-organismos responsáveis pela degradação da matéria orgânica e, ainda, outros efeitos danosos, progressivos e irreversíveis ao ambiente (MOURA et al., 2014; GOMES; BARIZON,



2014). A utilização das plantas medicinais na forma de extratos, óleos essenciais e infusões está sendo uma alternativa como agente antimicrobiano, a fim de minimizar os impactos no perfil de resistência dos micro-organismos (HOLETZ et al., 2002; RAUT; KARUPPAYIL, 2014). Atualmente, a prospecção de moléculas naturais capazes inibir ou eliminar o crescimento microbiano tem motivado muitas pesquisas. Diversos estudos reportam biomoléculas, isoladas de espécies do gênero *Lippia*, com propriedades antioxidantes, antibacteriana, antifúngica e antitumorais (PASCUAL et al., 2001). A erva-cidreira-de-arbusto, *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. (Verbenaceae), nativa em quase todo território brasileiro e amplamente empregada na medicina popular em diversas localidades do país (LORENZI; MATOS, 2002), como tratamento de doenças respiratórias e digestivas. Assim, no presente estudo avaliou-se a atividade antibacteriana de extrato etanólico das folhas de *L. alba*, coletadas em residências na cidade de Muritiba, Recôncavo da Bahia, frente as cepas Gram-negativa e Gram-positiva.

## Material e Métodos

A erva-cidreira-de-arbusto, *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br, foi coletada em domicílios na cidade de Muritiba, região do Recôncavo da Bahia. As plantas foram levadas para o Laboratório de Biotecnologia Microbiana – LABIOM da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), e as folhas foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 40 °C, por um período de 4 dias (TRENTIN et al., 2011).

A massa foliar desidratada (36,16 g) foi fragmentada e macerada em álcool etílico comercial (92,8°) na proporção de 1:5 (m/v). O Material foi mantido em temperatura ambiente e protegido da luz por um período de seis dias. O extrato obtido foi filtrado em papel filtro e concentrado em evaporador rotativo à 40 °C. O rendimento do extrato bruto obtido foi calculado utilizando a equação:  $T (\%) = \frac{M_f}{M_i} \times 100$  onde T = teor do extrato total (%);  $M_i$  = massa inicial da amostra (g);  $M_f$ =massa final do extrato seco (g) (PANSERA et al., 2003). Após a concentração, o resíduo do extrato seco foi homogeneizado em 5 mL de solução salina 0,85% estéril.

A suscetibilidade das cepas ao extrato obtido foi avaliada pela técnica de difusão em disco, seguindo a Metodologia proposta pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012). Nos testes foram utilizadas uma cepa Gram-positiva (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538) e uma Gram-negativa (*Escherichia coli* ATCC 25922) (BUSTAMANTE et al., 2010), servindo como modelo para testes posteriores em bactérias dos gêneros *Clavibacter*, *Bacillus*, *Erwinia*, *Xanthomonas*, *Pseudomonas*, dentre outras cepas fitopatogênicas (GARTEMANN et al., 2003; BETIOL; MORANDI, 2009; KAUR et al., 2016). Os discos para os testes foram confeccionados com papel de filtro secos



VI CONGRESSO LATINO-AMERICANO  
X CONGRESSO BRASILEIRO  
V SEMINÁRIO DO DF e ENTORNO  
**12-15 SETEMBRO 2017**  
**BRASÍLIA- DF, BRASIL**

**Tema Gerador 9**

Manejo de Agroecossistemas  
e Agricultura Orgânica



e estéreis com 6 mm de diâmetro. Aos discos foram adicionados 25 µL do extrato alcoólico bruto de *L. alba*. Após a semeadura, os discos foram aplicados com o auxílio de uma pinça estéril e pressionados na superfície do ágar para a completa aderência do disco ao meio de cultura. Os discos foram dispostos nas placas em pontos equidistantes e as placas incubadas a  $35 \pm 2$  °C por 24 horas. Os diâmetros dos halos de inibição do crescimento bacteriano foram mensurados em milímetros com auxílio de uma régua. Os testes foram realizados em triplicata utilizando a Solução Salina 0,85% estéril como controle negativo. Os controles positivos foram Sulfazotrim (25 µg) para *S. aureus* e Ciprofloxacina (5 µg) para *E. coli*. Os Resultados dos testes de difusão em disco foram interpretados enquadrando o valor do halo de inibição as categorias sensíveis, intermediárias, resistentes e não suscetíveis, em conformidade aos critérios estabelecidos pelo CLSI.

### **Resultados e Discussão**

O rendimento do extrato etanólico bruto obtido das folhas foi de 12,3% de massa seca. Pansera et al. (2003) citam um rendimento do extrato bruto de *L. alba* de 45%, porém utilizando o metanol como extrator e período de repouso de 10 dias do extrato.

O extrato bruto de *L. alba* testado frente a bactéria Gram-positiva apresentou halo de inibição com média das triplicatas de 7 mm de diâmetro. Na bactéria Gram-negativa não houve atividade antimicrobiana do extrato, cujas médias dos halos de inibição <10 mm de diâmetro (Tabela 1). Sena Filho et al. (2006) utilizando os extratores acetato de etila e metanol, obtiveram halos de entre 11 e 13 mm frente as cepas padrões de *S. aureus* a partir de extratos obtidos das raízes. Para a cepa *E. coli* não obtiveram atividade antimicrobiana.

A cepa Gram-positiva apresentou maior sensibilidade ao extrato testado, fato que possibilitará, após otimização do método de extração e solubilização do extrato, testá-lo como tratamento alternativo à cepas fitopatogênicas Gram-positivas, por exemplo, bactérias do gênero *Clavibacter*, bacteriose muito comum em plantios de tomate (GARTEMANN et al., 2003).



**Tabela 1:** Halos de inibição da cepa Gram-positiva e Gram-negativa utilizadas nos testes com o extrato etanólico bruto.

Cepa	Extrato etanólico	Controle Positivo		Controle Negativo
		Ciprofloxacina (5 µg)	Sulfazotrim (25 µg)	Salina 0,85%
Gram-positiva	7	-	33	-
Gram-negativa	-	25	-	-

(-) sem atividade; diâmetro do halo de inibição em mm

### Conclusão

O extrato obtido das folhas de *Lippia alba* apresentou atividade antimicrobiana nos testes *in vitro* frente a cepa Gram-positiva.

### Referências Bibliográficas

BETTIOL, W; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de Doenças de Plantas: Uso e Perspectivas**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2009. 341p.

BUSTAMANTE, K. G. L.; LIMA, A. D. F.; SOARES, M. L.; FIUZA, T. S.; TRESVENZOL, L. M. F., BARA, M. T. F.; PIMENTA, F. C.; PAULA, J. R. Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto da casca da sucupira branca (*Pterodon emarginatus* Vogel) – Fabaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.12, n.3, p.341-345, 2010.

FARIAS, E. M. F. G.; XIMENES, R. M.; MAGALHÃES, L. P. M.; CHIAPPETA, A. A.; SENA, K. X. F. R.; ALBUQUERQUE, J. F. C. Antifungal activity of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) against clinical isolates of *Candida* species. **Journal of Herbal Medicine**, v. 2, n.3, p. 63-67, set. 2012.

GARTEMANN, K-H; KIRCHNER, O. K.; ENGEMANN, J.; GAFEN, I.; EICHENLOUB, R. ; BURGER, A. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*: first steps in the understanding of virulence of a Gram-positive phytopathogenic bacterium. **Journal of Biotechnology**, v. 106, p. 179-191, 2003.

GOMES, M. A. F.; BARIZON, R. R. M. Panorama da contaminação ambiental por agrotóxicos e nitrato de origem agrícola no Brasil: cenário 1992-2011. **Documentos**, 98. Embrapa Meio Ambiente, 2014. 36 p



VI CONGRESSO LATINO-AMERICANO  
X CONGRESSO BRASILEIRO  
V SEMINÁRIO DO DF e ENTORNO  
**12-15 SETEMBRO 2017**  
**BRASÍLIA- DF, BRASIL**

**Tema Gerador 9**

Manejo de Agroecossistemas  
e Agricultura Orgânica



HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P. Screening of some plants used in the brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

KAUR, H.; NYOCHEMBENG, L. M.; MENTREDDY, S.; BANERJEE, P.; CEBET, E. Assessment of the antimicrobial activity of *Lentinula edodes* against *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. **Crop Protection**, v. 89, p. 284-288, 2016.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002. 512 p.

MOURA, G. S.; FRANZENER, G.; STANGARLIN, J. R; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Atividade antimicrobiana e indutora de fitoalexinas do hidrolado de carqueja [*Baccharis trimera* (Less) D. C.]. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, supl. I, p. 309-315, jan. 2014.

**NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS)**. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-second informational supplement. M100 S22, v. 32, n.3, 2012.

PANSERA, M. R.; SANTOS, A. C. A.; PAESE, K.; WASUM, R. ROSSATO, M.; ROTA, L. D.; PAULETTI, G. F.; SERAFINI, L. A. Análise de taninos totais em plantas aromáticas e medicinais cultivadas no Nordeste do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, n. 1, p. 17-22, jan./jul. 2003.

PASCUAL, M. A.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; SÁNCHEZ-MATA, D.; VILLAR, A. A. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v.76, n. 3, p. 201-214, ago. 2001.

SENA FILHO, J. G.; MELO, J. G. S.; SARAIVA, A. M.; GONÇALVES, A. M.; PSIOTTANO, M. N. C.; XAVIER, H. S. Antimicrobial activity and phytochemical profile from the roots of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, n. 4, p.506-509, out./dez. 2006.

TRENTIN, D. S.; GIORDANI, R. B.; ZIMMER, K. R.; SILVA, A. G.; SILVA, M. V.; CORREIA, M. T. S.; BAUMVOL, I. J. R.; MACEDO, A. J. Potencial of medicinal plants from the brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, p. 327-335, set. 2011.

RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal proprieties of oils. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 250-264, dez. 2014.