

## **Avaliação da ação antimicrobiana do látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. (Euphorbiaceae) em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas**

**Evaluation of the antimicrobial action of *Croton lechleri* Müll latex. Arg. (Euphorbiaceae) in Gram-positive and Gram-negative bacteria**

**Evaluación de la acción antimicrobiana del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. (Euphorbiaceae) en bacterias Gram-positivas y Gram-negativas**

Recebido: 10/11/2022 | Revisado: 22/11/2022 | Aceitado: 23/11/2022 | Publicado: 30/11/2022

**Ana Lívia do Nascimento Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1942-2540>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: [liviaana617@gmail.com](mailto:liviaana617@gmail.com)

**Karen Almeida da Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7022-1015>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: [karenSilva1999@gmail.com](mailto:karenSilva1999@gmail.com)

**Taiane Nunes Magalhães**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2977-4064>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: [taianenunesmagalhaes@gmail.com](mailto:taianenunesmagalhaes@gmail.com)

**Maria Karoline Sales de Sá**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0643-7057>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: [mkaroline.sales@gmail.com](mailto:mkaroline.sales@gmail.com)

**Rebeka Alves Ramos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4325-8410>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: [rebekaalves504@gmail.com](mailto:rebekaalves504@gmail.com)

**Yara Raphaela Maia dos Santos Gomes**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3850-8139>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: [yararaphaella09@gmail.com](mailto:yararaphaella09@gmail.com)

**Júlio Sancho Linhares Teixeira Militão**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6717-5038>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: [jmilitao@unir.br](mailto:jmilitao@unir.br)

**Almeida Andrade Casseb**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0633-7806>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: [almeida@unir.br](mailto:almeida@unir.br)

**Najla Benevides Matos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5956-6728>

Fundação Oswaldo Cruz Rondônia, Brasil

E-mail: [najla.matos@fiocruz.br](mailto:najla.matos@fiocruz.br)

**Elieth Afonso de Mesquita**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6562-5656>

Universidade Federal de Rondônia, Brasil

E-mail: [eliethbio@unir.br](mailto:eliethbio@unir.br)

### **Resumo**

A espécie *Croton lechleri* é usada com finalidades medicinais desde a antiguidade como propenso fitoterápico de ação antimicrobiana. O estudo visa observar a ação antibacteriana do extrato da *C. lechleri*. Para avaliar a concentração viável dos ensaios farmacológicos foi realizado teste de hemólise (hematócrito de 10%) a partir do extrato bruto (EB) diluído à 1 mg/mL e submetido a diluição seriada 1:2 até a concentração de 125 µg/mL. As cepas bacterianas, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, MRSA, *E. coli* e *E. faecalis*, foram inoculadas em caldo LB e semeadas em meio Ágar cromogênico. A atividade antimicrobiana do extrato da *C. lechleri* foi avaliada pelo ensaio de difusão em ágar com concentrações de 300, 150, 75 e 37,5 mg/mL e no teste da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foram utilizadas concentrações (75 a 0,58 mg/mL). O teste de hemólise demonstrou que o extrato não apresenta toxicidade hemolítica. As cepas bacterianas *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae* não mostraram inibição em relação às concentrações

do extrato. As cepas *S. aureus*, MRSA e *E. faecalis*, formaram halos de inibição >10 mm, a cepa *E. coli* não apresentou halo de inibição apenas na menor concentração. A análise da CIM demonstrou que dentre as cepas estudadas a *E. faecalis* apresenta maior sensibilidade ao extrato, apresentando uma concentração inibitória 50% menor que nas demais cepas sensíveis ao fármaco. Desta forma, sugere-se que o látex de *C. lechleri* possui um potencial como agente antimicrobiano.

**Palavras-chave:** *Croton*; Sangue-de-dragão; Antibacteriano; Plantas medicinais; Látex.

#### Abstract

The *Croton lechleri* species has been used for medicinal purposes since antiquity as a phytotherapeutic with antimicrobial action. The study aims to observe the antibacterial action of the *C. lechleri* extract. To evaluate the viable concentration of the pharmacological assays, a hemolysis test (10% hematocrit) was performed using the crude extract (EB) diluted at 1 mg/mL and subjected to a 1:2 serial dilution up to a concentration of 125 µg/mL. The bacterial strains, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, MRSA, *E. coli* and *E. faecalis*, were inoculated in LB broth and seeded in Chromogenic Agar medium. The antimicrobial activity of the *C. lechleri* extract was evaluated by the agar diffusion assay with concentrations of 300, 150, 75 and 37.5 mg/mL and in the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) concentrations (75 to 0, 58 mg/ml). The hemolysis test showed that the extract does not present hemolytic toxicity. The bacterial strains *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae* showed no inhibition in relation to the concentrations of the extract. The *S. aureus*, MRSA and *E. faecalis* strains formed inhibition halos >10 mm, the *E. coli* strain showed no inhibition halo only at the lowest concentration. The MIC analysis showed that, among the strains studied, *E. faecalis* is more sensitive to the extract, with an inhibitory concentration 50% lower than in the other drug-sensitive strains. Thus, it is suggested that *C. lechleri* latex has a potential as an antimicrobial agent.

**Keywords:** *Croton*; Dragon blood; Anti-bacterial; Medicinal plants; Latex.

#### Resumen

La especie *Croton lechleri* se ha utilizado con fines medicinales desde la antigüedad como fitoterapéutico con acción antimicrobiana. El estudio tiene como objetivo observar la acción antibacteriana del extracto de *C. lechleri*. Para evaluar la concentración viable de los ensayos farmacológicos, se realizó una prueba de hemólisis (10% de hematocrito) utilizando el extracto crudo (EB) diluido a 1 mg/mL y sometido a una dilución seriada 1:2 hasta una concentración de 125 µg/ml. Las cepas bacterianas, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, MRSA, *E. coli* y *E. faecalis*, se inocularon en caldo LB y se sembraron en medio Agar cromogénico. La actividad antimicrobiana del extracto de *C. lechleri* se evaluó mediante el ensayo de difusión en agar con concentraciones de 300, 150, 75 y 37,5 mg/mL y en las concentraciones de Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) (75 a 0, 58 mg/ml). La prueba de hemólisis demostró que el extracto no presenta toxicidad hemolítica. Las cepas bacterianas *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae* no mostraron inhibición en relación a las concentraciones del extracto. Las cepas de *S. aureus*, MRSA y *E. faecalis* formaron halos de inhibición >10 mm, la cepa de *E. coli* no mostró halo de inhibición solo en la concentración más baja. El análisis MIC mostró que, entre las cepas estudiadas, *E. faecalis* es más sensible al extracto, con una concentración inhibitoria un 50% menor que en las otras cepas sensibles a los medicamentos. Por lo tanto, se sugiere que el látex de *C. lechleri* tiene potencial como agente antimicrobiano.

**Palabras clave:** *Croton*; Sangre de dragón; Antibacteriano; Plantas medicinales; Látex.

## 1. Introdução

Desde o começo da civilização, o homem utiliza as plantas para fins medicinais, seja como forma de precaução e/ou tratamento de doenças, hábito empírico difundido entre gerações (Lopes et al., 2010; Santos et al., 2012; Feijó et al., 2012). As formas farmacêuticas são denominadas de fitoterápicos, as quais vêm sendo bastante utilizadas, de aspecto decisivo, tanto em atendimento básico a saúde, com objetivo preventivo ou cura de patologias (Bruning et al., 2012). Avalia-se que mais de 70% da população desfrute desta prática, especialmente em países que estão em desenvolvimento, valorizando o conhecimento cultural e estimulando o acesso ao tratamento (Parekh et al., 2005; Roy et al., 2013; Miranda et al., 2015).

No Brasil, por possuir uma valiosa biodiversidade, ocorre a utilização de diversas plantas com finalidades terapêuticas. Em 2006 o Sistema Único de Saúde (SUS) incluiu as plantas medicinais como opções de terapia no sistema público de saúde (Gadelha et al., 2013). No entanto, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) recentemente, alertou sobre o mal uso das plantas medicinais que pode ocasionar problemas de saúde (Brasil, 2022).

A espécie *Croton lechleri* Müll. Arg. conhecida na Amazônia como “Sangue de Dragão”, é assim denominada por possuir uma seiva vermelha de caráter viscoso, pertencente à família das Euphorbiaceae Juss., tem sido empregada para fins medicinais desde a antiguidade, empregada em enfermidades como: diarreias, úlceras gástricas, picadas de insetos, cicatrização

de feridas, câncer e infecções microbianas (Lopes et al., 2004; Alonso-Castro et al., 2012). No seu látex vermelho encontra-se a taspina, um alcalóide com atividade anti-inflamatórias e antioxidantes já descritas (Almeida et al., 2019). Alcalóides como magnoflorina, isoboldina e taliporfina, também são encontrados por toda planta, exceto nas glândulas da base das folhas que secretam açúcares para atrair formigas (Osakada, 2009).

Nesta espécie, com ampla distribuição na região amazônica, pode ser extraído do seu látex a proantocianidina oligomérica (SP-303) um inibidor do acúmulo de fluido induzido por toxina da cólera e das secreções de cloreto (Fischer et al., 2004), complexo que pode ser o principal responsável por atividades: de cicatrização de úlceras, propriedades antitumoral, antimutagênica, efeito antimicrobiano em *Helicobacter pylori*, e em bactérias isoladas de úlceras cutâneas, já descritas para o extrato (Osakada, 2009; Ortiz et al., 2003; Ramirez et al., 2013). Outras espécies de bactérias, como *Staphylococcus aureus*, estão frequentemente associadas a infecções hospitalares, podendo infectar humanos, causando espinhas, furúnculos, pneumonias, intoxicações alimentares e infecções em feridas cirúrgicas (Santos 2004; Paixão & Castro, 2016). Compostos extraídos de plantas comprovam serem capazes de combater doenças, com o mínimo de toxicidade para as células hospedeiras, esses compostos são considerados candidatos para aperfeiçoamento de novos antimicrobianos (Askari et al., 2012).

Em 2017 a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou uma lista de patógenos prioritários para o desenvolvimento de novos antibióticos, e em 2021 apontou que novos antibióticos são urgentemente necessários para tratar infecções bacterianas conforme identificado na lista de 2017 (WHO, 2017; WHO, 2021). Diante desse contexto, fica clara a necessidade de pesquisas que busquem novas drogas eficazes contra esse patógeno.

O aumento da resistência dos antibióticos às bactérias preconizado pela OMS, devido à plasticidade genômica e o uso prolongado e muitas vezes inadequado de medicações, cria a necessidade de estudos que visam pesquisar novos agentes a partir de extratos vegetais que possuam potencial para o desenvolvimento de medicamentos para contornar esse problema. Nesta circunstância, o presente estudo visa avaliar a ação antimicrobiana do extrato etanólico obtido a partir da casca de *C. lechleri* frente a diversas espécies bacterianas.

## 2. Metodologia

### Obtenção do extrato

A planta foi coletada no estado do Amazonas, no município de Boca do Acre, (localização via GPS Latitude 8.74069, Longitude -67.3841, S 8° 44' 26" W67° 23' 3") pela equipe do laboratório de química de produtos naturais da UNIR/Porto Velho. O extrato bruto foi extraído de pequenos cortes realizados na casca, fornecido pelo Laboratório de Química. O látex de consistência líquida foi encaminhado para o Laboratório de Biogeoquímica (UNIR), para realização da liofilização assim obtendo um extrato bruto e desidratado.

### Teste de hemólise

Para o ensaio de hemólise houve a separação das hemácias e do plasma através da centrifugação por 3 minutos a 2.500 rpm, as hemácias foram lavadas 2 vezes em soro fisiológico, passaram novamente por centrifugação, onde foram descartados os sobrenadantes. Em seguida, o sedimento de hemácias (*pellet*) foi suspenso em soro fisiológico para um hematócrito de 10%. O extrato puro (PA) foi diluído à 1 mg/mL, e a partir desta solução foi feita uma diluição seriada de 1:2 para obter concentrações de 500; 250 e 125µg/mL destes foram adicionados 0,5 mL em tubos *ependorfs* de 2 mL, contendo 1,5 mL de suspensão de hemácias a 10%. Na estufa foram incubados à 37 °C em tempos de 30', 60' e 120' minutos, a cada intervalo os tubos foram retirados da estufa, homogeneizados e alíquotados em 2 mL de cada suspensão que foram transferidos para *ependorfs* identificados. Então foram centrifugados a 2500 rpm durante 5 minutos, e o sobrenadante foi transferido para

cubetas de leitura e a hemólise foi quantificada por espectrofotometria UV-VIS em comprimento de onda de 540 nm (Rangel et al., 1997).

### **Preparo das bactérias**

As cepas bacterianas *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) e *S. aureus* resistente à Meticilina (MRSA), foram utilizadas para observar a atividade antimicrobiana. Uma colônia bacteriana de cada espécie foi inoculada em 5mL de caldo LB (Luria Bertani) da marca Kasvi e incubadas à 37 °C entre 18 e 24 horas. Posteriormente a cultura bacteriana foi ajustada a uma concentração de 0,5% McFarland.

### **Teste de difusão em Ágar**

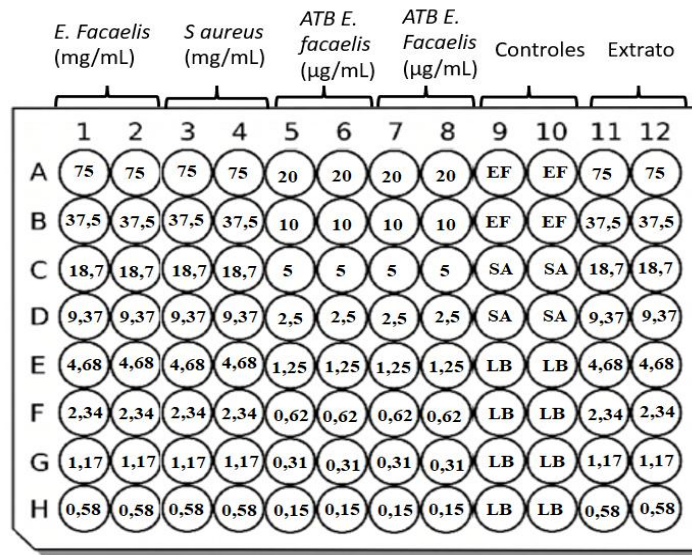
Para a preparação das placas foi utilizada a técnica descrita por Myer, Koshi (1982) Após a preparação do Ágar de Mueller-Hinton (MH) do fabricante Kasvi foram adicionados 20 mL na placa de Petri 90 x 15 mm. A após solidificação do meio de cultura, as bactérias foram semeadas com a ajuda de um *swab* estéril. Do extrato bruto foi realizado uma solução mãe com 300mg de extrato foi diluído em 0,5mL de água de injeção. Posteriormente foram feitos quatro poços de 6 mm de diâmetro em cada placa nos quais adicionou-se 50 µL das diluições do extrato nas concentrações de 300 a 37,5 mg/mL. As placas foram incubadas em estufa a 37 °C por 24 horas e foram posteriormente realizadas aferição das medidas dos halos.

### **Concentração Inibitória Mínima (CIM)**

Os testes da concentração inibitória mínima (CIM) foram realizados segundo a metodologia descrita em *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2020). As culturas das diferentes espécies bacterianas foram ajustadas na concentração de 0,5 McFarland, isso é, aproximadamente a  $1,5 \times 10^8$  Unidades Formadoras de Colônias (UFC)/mL. Após ajustada à concentração de McFarland, as bactérias foram diluídas para que cada poço tivesse uma concentração final de  $10^5$  UFC/mL, sendo adicionado 5,32 µL de bactéria à 0,5 McFarland em 3,992 mL de caldo LB.

O ensaio *in vitro* de CIM foi realizado apenas com as bactérias apresentaram potencial de sensibilidade ao extrato no teste de difusão em ágar, e com a menor concentração com resultado positivo observada no teste. Foi utilizado placa de 96 poços, em duplicatas na vertical onde foram adicionados 100 µL de caldo LB e adicionado 100 µL solução do extrato e realizado a diluição seriada de 75 a 0,586 mg/mL. Como controle positivo foi utilizado o antibiótico da marca êxodo científica, o Cloranfenicol 20 µg/mL, conforme dispostos na figura 1 (colunas 5-8). Nos controles negativos foram adicionadas apenas as bactérias (colunas 9-10) e apenas o extrato (11-12). As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas, após a incubação foram feitos testes de células viáveis, para isso foi semeado em placa de Petri as amostras de alguns poços, após semeado as placas de 96 poços foi lida em espectrofotômetro.

**Figura 1** - Esquema do plaqueamento para o teste de CIM.



Legenda: ATB (controles positivos); colunas 9-10 (controles negativos).

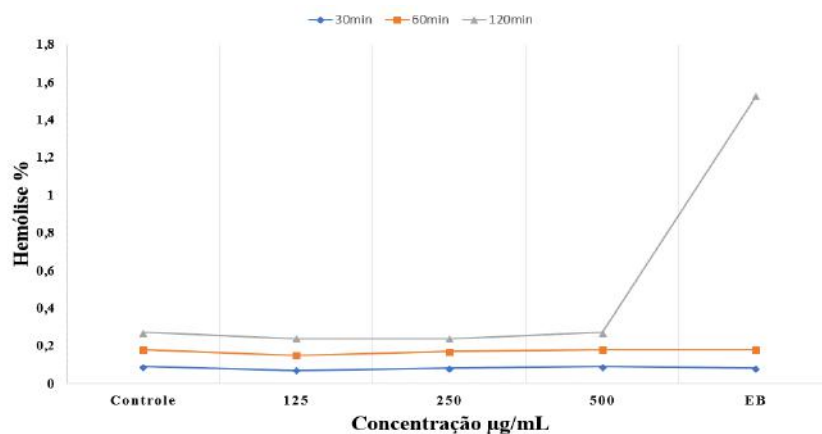
### 3. Resultados e Discussão

#### Teste de toxicidade hemolítica

O desenvolvimento de fármacos necessita de estudos de toxicidade para reduzir os efeitos negativos ao ser humano, atualmente para ser registrado uma planta medicinal a Anvisa exige que seja criteriosamente avaliada o seu potencial toxicológico, que pode ser medido através do teste de hemólise (Silva et al., 2021). A alta atividade hemolítica provocando a liberação de hemoglobina, podendo levar a problemas nos rins (nefrotoxicidade) e no coração (efeito vasomotor) (Carvalho et al., 2007).

O teste de hemólise realizado a partir do extrato bruto etanólico das cascas de *C. lechleri* (Gráfico 1), as amostras com concentrações de 500; 250 e 125 µg/mL do extrato, não apresentam hemólise nos três tempos propostos, a absorbância obtida quando comparada com o controle não alterou, porém, no extrato puro (PA) ocorreu grau baixo de hemólise, não significativo no tempo de maior incubação (120 min).

**Gráfico 1** - Absorbância das amostras em tempos de 30', 60' e 120 minutos.



Legenda: Extrato Puro (PA). Fonte: Autores.

Ensaio de toxicidade já foram realizados para outras espécies do gênero *Croton*, o segundo maior gênero da família Euphorbiaceae. Lima et al., (2021) descreveu a hemólise do extrato de *Croton sonderianus* em concentrações de 1000, 750, 500, 250, 100 e 50 µg/mL, e como resultado as absorvâncias médias indicam uma baixa atividade hemolítica. Com a máxima de 0,202 na concentração de 1000µg/mL e a mínima de 0,027 em concentração de 50 µg/mL, corroborando com os resultados aqui encontrados.

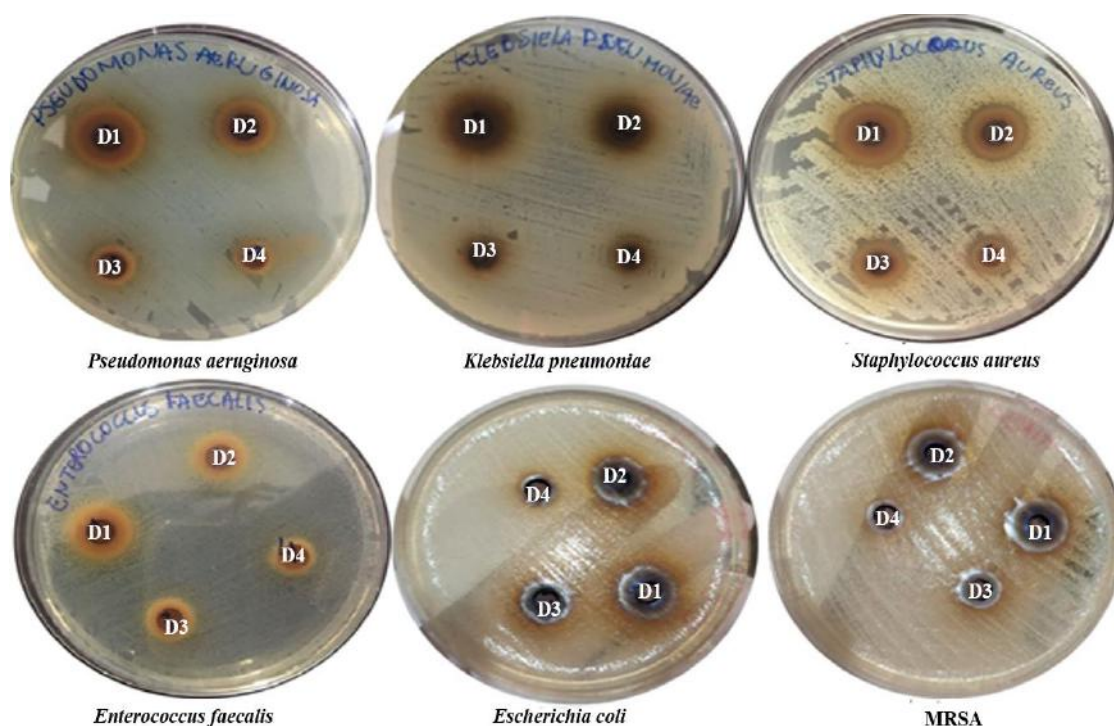
O óleo essencial da espécie *Croton tricolor* nativa da caatinga foi testada em eritrócitos humanos, sorotipos A, B e O, sendo relatado um baixo efeito hemolítico em sorotipos A e B (>15,17%), já no sorotipo O não apresentou hemólise, em concentração de 10 mg/mL (Ferreira, 2014) quando comparado com esse ensaio, o extrato puro teve resultado no tempo máximo de 120' minutos de 1,4 de percentual hemolítico sendo considerado grau baixo de hemólise. O potencial hemolítico da *Croton glandulosus* foi observado por Oliveira (2020), indicou que nas concentrações testadas (100, 250, 500, 750 e 1000 µg/mL) o óleo não é capaz de romper eritrócitos, assim como as concentrações aqui testadas com percentual menor que 15%.

Silva et al. (2016) ao analisar o efeito toxico do extrato de *Croton growioides* em sangue de ratos, observou que em altas concentrações como 500 mg/mL não se teve toxicidade, esses resultados demonstram que as espécies desse gênero *Croton* possuiu nenhum ou um baixo potencial hemolítico quando expostas ao extrato ou a óleos essenciais, sendo uma alternativa terapêutica segura.

### Teste de difusão em Ágar

Nos ensaios de difusão em ágar (Figura 2), foi verificado que nas placas com as cepas de *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae* não foi observado halos de inibição nas quatro concentrações do extrato, o que indica que não apresenta ação farmacológica nelas. As cepas de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* e MRSA, apresentaram nas quatro concentrações a presença de halos, apontando uma sensibilidade dessas bactérias ao extrato.

**Figura 2** - Ensaio *in vitro* do crescimento bacteriano (difusão em ágar).



Legenda: Placa de Petri com quatro poços, nas concentrações do extrato de *C. lechleri* 300 mg/mL; 150 mg/mL; 75 mg/mL e 37,5 mg/mL (D1 ao D4). Fonte: Autores (2022).

As bactérias *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* e *E. coli* são cepas Gram-negativas, que possuem uma membrana externa, destas somente a *E. coli* demonstrou sensibilidade ao extrato, sendo resistente na concentração de 37,5 mg/mL, das Gram-positivas testadas a *S. aureus* possuiu visualmente o melhor resultado. A *E. faecalis* e a MRSA também foram sensíveis ao extrato em todas as concentrações testadas no teste de difusão em ágar.

A formação de halo define sugere um potencial de sensibilidade do microrganismo para produtos naturais, estudos mostram que halos de inibição menores que 8 mm as cepas são consideradas resistentes, e são consideradas sensíveis quando o halo é de 9 a 14 mm (Moreira 2005). Os resultados demonstraram uma atividade antimicrobiana significativa (Tabela 1) onde a *S. aureus* foi a bactéria que apresentou halo >14 mm em todas as concentrações, sugere uma elevada sensibilidade ao extrato, a cepa MRSA apresentou um halo de inibição >10 mm e *E. faecalis* também se notou o halo  $\geq$ 14 mm sugerindo uma alta sensibilidade ao extrato. A *E. coli* em concentração de 37,5 foi resistente.

**Tabela 1** - Susceptibilidade das bactérias as concentrações do extrato de *C. lechleri*.

Bactérias	Diâmetro dos halos de inibição (mm)			
	D1	D2	D3	D4
<i>S. aureus</i>	20	19	18	18
MRSA	19	14	10	10
<i>E. coli</i>	12	11	9	0
<i>E. faecalis</i>	19	17	15	14

Legenda: Concentrações D1- 300 mg/mL; D2- 150mg/mL; D3-75mg/mL e D4- 37,5 mg/mL. Fonte: Autores (2022).

A *S. aureus* apresentou um halo de 19 mm e 18 mm de diâmetro de inibição nas concentrações de 150 mg/mL e 75 mg/mL resultado positivo que também foi descrito por Arrais et al (2014) na espécie de *Croton pulegioides* em concentração de 100  $\mu$ g/mL que formou um halo de inibição de 14 mm para *S. aureus*. O potencial inibitório da *C. sonderianus* foi testado frente a *E. coli*, *Klebsiella ssp.*, *S. aureus* e *Streptococcus pyogenes*, considerado antimicrobiano, pois nas concentrações testadas ocorreram formações de halos de 16-10 mm diâmetro, em diferentes concentrações (Lima et al., 2021). Para a espécie *C. lechleri*, um estudo demonstrou sua ação antimicrobiana em *Helicobacter pylori* onde o teste de disco difusão se formou halos de 12 a 18 mm (Ortiz et al, 2003). Ramirez et al. (2013) avaliou o potencial da *Croton lechleri* contra isolados de pacientes com úlceras cutâneas, as cepas de *S. aureus* e *E. coli* formaram halos de inibição de 18 mm e 6 mm em diluições de 1:2. Resultados que confirmam os descritos nessa pesquisa, evidenciando a ação inibitória *C. lechleri* e do gênero *Croton* em diferentes bactérias.

### Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Na Tabela 2 observa-se o resultado da avaliação da concentração inibitória mínima do extrato de *C. lechleri* contra as cepas de *E. faecalis*, *S. aureus* e *E.coli* a partir das concentrações de 75 mg/mL até 0,586 mg/mL. A *E. coli* possui a concentração bactericida mínima de 37,5 mg/mL. Na tabela 2 verifica-se o resultado da concentração inibitória mínima.

**Tabela 2** - Resultado da concentração inibitória mínima.

	CIM (µg/mL)
<i>E. faecalis</i>	9375
<i>S. aureus</i>	18750
<i>E. coli</i>	37500

Legenda: CIM- Concentração inibitória mínima em µg/mL. Fonte: Autores (2022).

A bactéria *E. faecalis* demonstrou sensibilidade em menor concentração (9375 µg/mL) do que as cepas de *S. aureus* e *E. coli* que tiveram como CIM 37500 µg/mL. Diferentemente dos antibióticos padrões, que existem um consenso sobre as concentrações aceitáveis para utilização, para as plantas medicinais, um padrão ainda não foi descrito, encontrando na literatura diversos estudos com concentração variadas (Ribeiro et al., 2009).

Em um estudo realizado por Panda et al. (2010) evidenciaram a atividade antibacteriana do extrato alcoólico da casca e da folha da *Croton roxburghii* com concentração de 156 µg/mL em *S. aureus*, concentração muito baixa se comparamos com o presente estudo de 18750 µg/mL para *S. aureus*. Quando observamos valores descritos de CIM para o óleo essencial de *Croton pulegioidorus* são de 8000 µg/mL para *S. aureus*, concentração menor do que a encontrada para *E. faecalis* de 9375 µg/mL porem maior do que as comumente encontradas (Rocha et al., 2021). López (2010) descreveu o CIM da casca de *Croton urucurana* em *E. faecalis*, *S. aureus* e *E. coli*, com inibição de 0,9 mg/mL, 0,5 mg/mL e 0,6 mg/mL respectivamente, observa-se o valor obtido nesse estudo é bem menor evidenciando que o extrato da *C. lechleri* necessita de concentrações maiores para possuir atividade antibacteriana. O óleo essencial das folhas de *Croton zehntneri* inibiu o crescimento de *S. aureus* e *E. coli* nas concentrações de 1000 e 500 µg/mL, conhecida como canelinha, esta demonstrou um potencial antibacteriano e concentrações menores em relação ao extrato de *C. lechleri* aqui descrita (Costa et al., 2008).

Para espécie *C. lechleri* se tem descrito um estudo com metodologia de CIM, que foi realizado por Ortiz (2003) utilizando a cepa da bactéria *Helicobacter pylori*, que foi testada no látex da planta obtido de diferentes localidades com e sem solventes, para a cepa o látex inibiu o crescimento em concentrações puras e quando diluído o extrato perdia o efeito.

O potencial antibacteriano pode ser justificado por sua composição alcalóides como taspina e proantocianidina oligomérica (SP-303), a taspina um alcalóide incomum encontrado no látex da *C. lechleri*, possui ação anti-inflamatórias e antioxidantes, a estudos indicam que a junção da taspina e da SP-303 desempenhem os efeitos já descritos de cicatrização de úlceras, propriedades antitumoral, antimutagênica, efeito antimicrobiano em *Helicobacter pylori* (Osakada, 2009; Almeida et al., 2019). Justificando os resultados obtidos nesse estudo.

#### 4. Conclusão

Os resultados deste estudo sugerem que o extrato de *C. lechleri* não possui uma atividade hemolítica nas baixas concentrações e no extrato bruto demonstrou um baixo potencial, não significativo. A ação antimicrobiana da espécie *C. lechleri* apresenta atividade já descrita para bactérias de úlceras gástricas e cutâneas, o presente estudo demonstrou a que o extrato também possui ação antimicrobiana para *S. aureus*, MRSA, *E. coli* e *E. faecalis*. Sendo necessários mais estudos com fracionamentos para analisar quais componentes estão demonstrando a ação antimicrobiana nessas bactérias.

#### Referências

Almeida, F. K. V. de, Novais, V. P., Salva, J. D. O., & Marson, R. F. (2019). Avaliação tóxica, citotóxica e mutagênica/genotóxica de um extrato comercial de sangue do dragão (*Croton lechleri*). *Revista Fitos*, 13(1), 29. <https://doi.org/10.17648/2446-4775.2019.605>



- Alonso-Castro, A. J., Ortiz-Sánchez, E., Domínguez, F., López-Toledo, G., Chávez, M., Ortiz-Tello, A. D. J., & García-Carrancá, A. (2012). Antitumor effect of *Croton lechleri* Mull. Arg. (Euphorbiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 140(2), 438–442. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2012.01.009>
- Arrais, L. G., Lyra, H. F. S., Batista, D. C. A., Coutinho, F. N., Saraiva, A. M., Pereira, R. C. A., Pisciotano, M. N. C., (2014). Atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos da raiz, caule e folhas de *Croton pulegioides* Baill. (Zabelê). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 16(2), 316–322. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/gzB67RmFFBzR7mtKqNTBCFv/?lang=pt#>
- Askari, G. A., Kahouadji, A., Khedid, K., Mousaddak, M., Ouaffak, L., Charof, R., & Mennane, Z. (2012). Evaluation of Antimicrobial Activity of Aqueous and Ethanolic Extracts of Leaves of *Vitis vinifera* Collected from Different Regions in Morocco. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences.*, 12(1), 85–90. Disponível em: [https://www.idosi.org/aejaes/jaes12\(1\)12/12.pdf](https://www.idosi.org/aejaes/jaes12(1)12/12.pdf)
- Brasil. (2022). Orientações sobre o uso de fitoterápicos e plantas medicinais. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/medicamentos/publicacoes-sobre-medicamentos/orientacoes-sobre-o-uso-de-fitoterapicos-e-plantas-mediciniais.pdf>
- Bruning, M. C. R., Mosegui, G. B. G., & Vianna, C. M. de M. (2012). A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu - Paraná: a visão dos profissionais de saúde. *Ciência & Saúde Coletiva*, 17(10), 2675–2685.
- Carvalho, E. B., Borges, É. L., Carlos, L. M. B., Silva, M. A. M., Magalhães, S. M. M., Gomes, F. V. B. A. F., Carvalho, M. J. C., et al. (2007). Efeito da bomba de infusão de soluções sobre o grau de hemólise em concentrados de hemácias. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 29 (2), 149–152. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/VwKxZFxxMyvhTkyYJbtSqrQM/?lang=pt>
- CLSI (2020). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. *Clinical and Laboratory Standards Institute*. 30 th ed., 32
- Costa, J. G. M., Rodrigues, F. F. G., Angélico, E. C., Pereira, C. K. B., Souza, E. O., Caldas, G. F. R., Silva, M. R., et al. (2008). Composição química e avaliação da atividade antibacteriana e toxicidade do óleo essencial de *Croton zehntneri* (variedade estragol). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18(4), 583–586. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000400015>
- Feijó, A. M., Bueno, M. E. N., Ceolin, T., Linck, C. L., Schwartz, E., Lange, C., Meincke, S. M. K. (2012). Plantas medicinais utilizadas por idosos com diagnóstico de Diabetes mellitus no tratamento dos sintomas da doença. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 14. (1), 50–56.
- Ferreira, S. (2014). *Investigação dos efeitos antimicrobiano, citotóxico e genotóxico do óleo essencial das folhas de Croton tricolor Klotsch ex Baill (Euphorbiaceae)*. Dissertação Pós-graduação, Universidade Federal da Paraíba Centro de Ciências da Saúde Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/tede/8068/2/arquivototal.pdf>
- Fischer, H., Machen, T. E., Widdicombe, J. H., Carlson, T. J. S., King, S. R., Chow, J. W. S., & Illek, B. (2004). A novel extract SB-300 from the stem bark latex of *Croton lechleri* inhibits CFTR-mediated chloride secretion in human colonic epithelial cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 93. (2-3), 351–357.
- Gadelha, C. S., Junior, V. M. P., Bezerra, K. K. S., Pereira, B. B. M., & Maracajá, P. B. (2013). Estudo bibliográfico sobre o uso das plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 8. (5), 208–212.
- Lima, J. S., Farias, P. A. M., Silva, I. A., Silva Muniz, I. C., Silva Muniz, I. I., Silva, C. H. P., Oliveira Coimbra, C. G. (2021). Análise toxicológica e microbiológica do extrato bruto seco do marmeleiro (*Croton sonderianus* Muell. Arg.). *Revista Eletrônica Acervo Científico*, 39, e9338-e9338.
- Lopes, G. A. D., Feliciano, L. M., Diniz, R. E. S., & Alves, M. J. Q. F. (2010). Plantas medicinais: indicação popular de uso no tratamento de Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS). *Revista Ciência em Extensão*, 6. (2), 143–55. Disponível em: [https://ojs.unesp.br/index.php/revista\\_proex/article/view/377](https://ojs.unesp.br/index.php/revista_proex/article/view/377)
- Lopes, M. I. L. e, Saffi, J., Echeverrigaray, S., Henriques, J. A. P., & Salvador, M. (2004). Mutagenic and antioxidant activities of *Croton lechleri* sap in biological systems. *Journal of Ethnopharmacology*, 95. (2-3), 437–445. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15507372/>
- López, P. V. A. (2010). *Bioprospeção de extratos de Croton urucurana Baill e seus fungos endofíticos Curitiba*. Dissertação de pós-graduação, Universidade Federal do Paraná Departamento de Patologia Básica, Setores de Ciências Biológicas e da Saúde Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/24116/DISERTACION%20VERSION%20FINAL%20PATRICIA%20ARAUJO.pdf?sequence=1&isAllowed=1>
- Miranda, J. A. L., Rocha, J. A., Araújo, K. M., Quelemes, P. V., Mayo, S. J., & Andrade, I. M. (2015). Atividade antibacteriana de extratos de folhas de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott (Araceae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 17(4-3), 1142–1149.
- Moreira, M. R., Ponce, A. G., Valle, C. E., & Roura, S. I. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT - Food Science and Technology*, 38(5), 565–570. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643804001938>
- Myers R. M & Koshi G. (1982) Manual of diagnostic procedures in medical microbiology and immunology and serology. Christian Medical Faculdade e Hospital. 72:109
- Oliveira, L. F. D. (2020). *Estudo químico, propriedades antioxidantes, biológicas, antitumoral e hepatoprotetora das partes aéreas de Croton glandulosus Linnaeus., Euphorbiaceae*. Dissertação de doutorado, Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências da Saúde. Disponível em: <https://www.acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/71323/R%20-%20T%20-%20LETICIA%20FREIRE%20DE%20OLIVEIRA.pdf?sequence=1&isAllowed=1>
- Ortiz, J. H. T., Mendoza, R. C., Cadenas, E. J. P., & Olano, J. A. (2003). Actividad antibacteriana de la Sangre de Grado (*Croton lechleri*) frente al *Helicobacter pylori*. *Revista Medica Herediana*, 14. (2), 81–88. Disponível em: [http://dev.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1018-130X2003000200008](http://dev.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2003000200008)
- Osakada, A. (2009). *Desenvolvimento inicial de sangue-de-dragão (Croton lechleri müll. arg.) sob diferentes classes de solos, corretivos e níveis de luminosidade na Amazônia central*. Dissertação pós-graduação do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia Universidade Federal do Amazonas. Disponível em: [http://bibliotecaflorestal.ufv.br/bitstream/handle/123456789/8492/Dissertacao\\_%20Ayumi%20Osakada.pdf](http://bibliotecaflorestal.ufv.br/bitstream/handle/123456789/8492/Dissertacao_%20Ayumi%20Osakada.pdf)
- Paixão, L. A., & Castro, F. F. dos S. (2016). Colonização da microbiota intestinal e sua influência na saúde do hospedeiro. *Universitas: Ciências da Saúde*, 14(1). 10.5102/ucs.v14i1.3629

- Panda, S., Dutta, S., & Bastia, A. (2010). Antibacterial activity of *Croton roxburghii* balak. against the enteric pathogens. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 1. (4), 419.
- Parekh, J., Jadeja, D., & Chanda, S. (2005). Efficacy of Aqueous and Methanol Extracts of Some Medicinal Plants for Potential Antibacterial Activity. *Turkish Journal of Biology*, 29, 203–210.
- Ramírez, L. C., Castañeda, A. C., & Vargas, A. M. (2013). Evaluación del potencial antibacteriano in vitro de *Croton lechleri* frente a aislamientos bacterianos de pacientes con úlceras cutáneas. *Nova*, 11(19), 51–63. Disponível em: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1794-24702013000100006#f7](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702013000100006#f7)
- Rangel, M., Malpezzi, E. L. A., Susini, S. M. M., & Freitas, J. (1997). Hemolytic activity in extracts of the diatom *Nitzschia*. *Toxicon*, 35(2), 305–309.
- Ribeiro, C. M. R., Souza, K. G. S., Ribeiro, T. A. C., Vieira, A. B. R., Mendonça, L. C. V., Barbosa, W. L. R., & Vieira, J. M. S. (2009). Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas utilizadas na medicina popular da Amazônia. *Infarma - Ciências Farmacêuticas*, 21. (1).
- Rocha, R. R., Matos, M. N. C., Guerrero, J. A. P., Cavalcante, R. M. B., Melo, R. S., Azevedo, Á. M. A., Pereira, A. M. G., & Carneiro, V. A. (2021). Comparative study of the chemical composition, antibacterial activity and synergic effects of the essential oils of *Croton tetradenius* baill. And *C. pulegioides* baill. Against *Staphylococcus aureus* isolates. *Microbial Pathogenesis*, 156, 104934. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104934>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0882401021002060>
- Roy, S., Dutta Choudhury, M., & Paul, S. (2013). In vitro antibacterial activity of *alocasia decipiens* schott. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(1) 155–157. Disponível em: <https://innovareacademics.in/journal/ijpps/Vol5Suppl1/6308.pdf>
- Santos, M. M., Nunes, M. G. S., & Martins, R. D. (2012). Uso empírico de plantas medicinais para tratamento de diabetes. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 14. (2), 327–334
- Santos, N. Q. (2004). A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. *Texto & Contexto - Enfermagem*, 13, 64–70.
- Silva, A. D. S., Silva, K. M. E., Neto, J. C., Costa, V. C. O., Pessôa, H. L. F., Tavares, J. F., Silva, M. S., (2016). *Croton grewioides* Baill. (Euphorbiaceae) Shows Antidiarrheal Activity in Mice. *Pharmacognosy Research*, 8(3), 202–205. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27365990/>
- Silva, M. G., Furtado, M. M., Osório, A. T., Morais, Imara C. P. S., Amaral, M. P. M., Coêlho, A. G., & Arcanjo, D. D. R. (2021). A importância dos ensaios de toxicidade para o desenvolvimento e o registro de fitoterápicos no Brasil. *Research, Society and Development*, 1. 0(12).
- World Health Organization (2017). *Monitoring health for the SDGs, Sustainable Development Goals*. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255336/9789241565486-eng.pdf>
- World Health Organization (2021). *2021 Antibacterial agents in clinical and preclinical development: an overview and analysis*. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240047655>