


ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE GLYCYRRHIZA GLABRA (ALCAÇUZ) SOBRE ISOLADOS CLÍNICOS DE ESCHERICHIA COLI

 <https://doi.org/10.56238/arev7n2-159>

Data de submissão: 12/01/2025

Data de publicação: 12/02/2025

Waldemar de Paula-Júnior

Doutorado em Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal de Ouro Preto – Ufop
E-mail: waldemar.junior@unimontes.br

Rebecca Alves Marinho

Graduanda em Medicina
Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes
E-mail: rebeccaalvesmarinho@gmail.com

Yves André Rodrigues Gomes

Graduando em Medicina
Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes
E-mail: yvesandrerg@outlook.com

Guilherme Henrique Azevedo dos Reis

Graduando em Medicina
Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes
E-mail: ghadrnoc@gmail.com

Maria Tereza Carvalho Almeida

Doutorado em Ciências da Saúde
Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes
E-mail: maria.almeida@unimontes.br

Viviane de Oliveira Vasconcelos

Doutorado em Parasitologia
Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes)
E-mail: viviane.vasconcelos@unimontes.br

Thaís de Almeida Pinheiro

Mestrado em Ciências da Saúde
Universidade Estadual de Montes Claros – Unimontes
E-mail: thaís.pinheiro@unifipmoc.edu.br

Thales de Almeida Pinheiro

Mestrado em Ciências da Saúde
Universidade Estadual de Montes Claros – Unimontes
E-mail: thales.pinheiro@unifipmoc.edu.br

Valéria Farias Andrade

Mestrado em Produção Vegetal
Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG
E-mail: valeria.andrade@unifipmoc.edu.br

Luís Paulo Ribeiro Ruas

Mestrado em Saúde, Sociedade e Ambiente pela
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM
E-mail: luis.ruas@unifipmoc.edu.br

Eurislene Moreira Antunes Damasceno

Mestrado em Cuidado Primário em Saúde
Faculdades Unidas do Norte de Minas (Funorte), Universidade Estadual de
Montes Claros (Unimontes)
E-mail: lene.euris@yahoo.com.br

Thiago Santos Monção

Doutorando em Biotecnologia
Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes), Centro Universitário
FIPMoc (Unifipmoc Afya)
E-mail: professorthiagomoncao@gmail.com

Janniny Fernanda Lopes Mendes Figueiredo Lacerda

Residência médica em saúde da família e comunidade
Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes
E-mail: nynafigueiredo@gmail.com

Maria Cristina da Costa

Graduada em Medicina
Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes
E-mail: tchayna.mc@gmail.com

Flávio Júnior Barbosa Figueiredo

Doutorado em Ciência da Saúde (Fiocruz)
Centro Universitário FIPMoc - Afya e Centro Universitário do Norte de Minas
E-mail: figueiredofjb@gmail.com

RESUMO

A resistência bacteriana aos antimicrobianos é um fenômeno genético desenvolvido pelos micro-organismos que leva à ineficácia de grande parte dos fármacos utilizados para o tratamento de doenças infecciosas. A *Escherichia coli* é uma bactéria gram-negativa associada a quadros clínicos de controle complexo. Esse cenário aponta a busca de novas alternativas de tratamento para essa bactéria, sobretudo com base em plantas medicinais, ricas em compostos químicos farmacologicamente ativos. O objetivo deste trabalho é avaliar a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico de *Glycyrrhiza glabra* (alcaçuz) sobre isolados clínicos *Escherichia coli*. Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados em triplicatas independentes por meio da pesquisa da concentração inibitória mínima (CIM), em microplacas de 96 poços, utilizando o corante resazurina. O presente estudo pode contribuir para o entendimento da atividade antimicrobiana do extrato em questão e suas possíveis limitações,

além de direcionar pesquisas para o desenvolvimento de fitofármacos ativos sobre isolados clínicos de *Escherichia coli*.

Palavras-chave: Antimicrobianos. *Escherichia Coli*. *Glycyrrhiza Glabra*. Resistência Bacteriana.

1 INTRODUÇÃO

A resistência bacteriana é um fenômeno genético que se dá por mutações em bactérias e corresponde a um problema de saúde mundial, influenciado pela utilização inadequada de antimicrobianos pela população. Estudos para identificação de novos antimicrobianos vêm sendo realizados para reverter esse importante problema (Loureiro et al., 2016). Alguns desses estudos foram feitos em hospitais e mostraram a resistência da bactéria *Staphylococcus aureus* frente à metilicina. Os profissionais de saúde que têm contato direto com o paciente infectado tem grande chance de desenvolver resistência aos medicamentos utilizados para combater doenças causadas por microrganismos (Franco et al., 2015).

Markwart e colegas (2020) relataram que o registro de mortalidade nos Centro de Tratamento Intensivo (CTIs) varia de 9 a 38%, podendo chegar a 70% quando apresentam alguma infecção relacionada ao cuidado em saúde (IRCS), e a mortalidade pode chegar a 50% quando relacionada a infecções por microrganismos resistentes (Markwart et al., 2020). Dentre eles, destaca-se a *Escherichia coli*, uma bactéria gram negativa, pertencente à família *Enterobacteriaceae*, não esporulada, flagelada, possuindo uma temperatura excelente para desenvolvimento de 37°C (Denamur et al., 2021). Seu tamanho varia de 1,1 a 1,5µm por 2 a 6µm, com metabolismo anaeróbio facultativo, fazendo parte do grupo de coliformes fecais, sendo, assim, um indicador de contaminação fecal mais específico (Fernandes et al., 2015). A *E. coli* vive no trato digestivo compondo a microbiota intestinal. Comumente, a bactéria se encontra presente de forma a não causar doenças, enquanto, em outros casos, cepas mutagênicas podem ser adquiridas e provocar um processo infeccioso no intestino, a exemplo da diarreias agudas, meningite, infecção do trato urinário, dentre outras doenças (Pokharel et al., 2023).

Além dos estudos que são feitos para combater a resistência dos microrganismos na tentativa de novas drogas com capacidade antimicrobiana ou sinergismo, há, em voga, o uso de plantas medicinais (Oliveira et al., 2015). Utilizadas na medicina popular, apresentam atividade contra vários microorganismos. Consideradas de fácil acesso e economicamente viáveis, as plantas representam uma importante fonte de novos medicamentos (Flor, et al., 2015). Para a Organização Mundial de Saúde, é essencial a realização de investigações experimentais com plantas para seu uso na medicina alternativa. Em 2006 o Ministério da Saúde aprovou e incluiu o uso das plantas medicinais no SUS para que a população tenha tratamento não só com produtos industrializados, mas também com produtos naturais (Boccolini & Boccolini, 2020).

Uma das plantas que são utilizadas para o tratamento de doenças é o alcaçuz, que pertence à família *Leguminosae* de nome científico *Glycyrrhiza glabra*. Originária da Ásia, as partes utilizadas

são raiz, caule e folhas, sendo a raiz utilizada pela medicina popular contra asma, tosse, bronquite e inflamação gástrica (Wahab *et al.*, 2021). Um estudo comprovou a proteção dessa planta contra a gastrite, justificado pelas propriedades antiácidas e antiespasmódicas, que auxiliam o sistema digestivo melhorando as funções biliares, reduzindo a acidez do estômago e aumentando a secreção de muco. Os metabólitos secundários que estão relacionados a esses efeitos são as saponinas e os flavonoides (Murugan *et al.*, 2022).

Além disso, um estudo de revisão sistemática de ensaios clínicos realizado por Dorsareh *et al.* (2023) evidenciou os efeitos do extrato da raiz do alcaçuz em diminuir sinais e sintomas da estomatite aftosa recorrente, uma condição comum da cavidade oral na qual é identificada pela presença de lesões em mucosa oral. Uma pesquisa realizada com o extrato do alcaçuz na concentração de 100 mg/mL, observou redução média do biofilme de *Staphylococcus aureus* em comparação ao grupo controle (Araujo *et al.*, 2016). Por tanto, a literatura evidencia o potencial da *Glycyrrhiza glabra* como produto medicinal, apesar de ainda existirem lacunas a serem preenchidas quanto à quantificação de sua atividade antibacteriana contra patógenos específicos.

Diante do exposto, o presente artigo teve como objetivo determinar a concentração inibitória mínima (CIM) do extrato hidroalcoólico de *Glycyrrhiza glabra* sobre isolados clínicos de *Escherichia coli*.

2 METODOLOGIA

2.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO

O extrato hidroalcoólico das folhas de *Glycyrrhiza glabra* (alcaçuz) obtido do Laboratório Harmonize (Ipatinga, Minas Gerais, Brasil) foi filtrado, submetido à rota evaporação a 50 °C e liofilizado. O material gerado foi acondicionado em frasco âmbar a 4°C até o momento de uso, e posteriormente pesado e utilizado para o preparo de solução estoque a 1mg/mL em dimetilsulfóxido (DMSO - Synth, São Paulo, Brasil) 5%, sendo utilizada, imediatamente, nos testes biológicos.

2.2 TRIAGEM FITOQUÍMICA

Os testes fitoquímicos qualitativos basearam-se em métodos colorimétricos e foram conduzidos da seguinte forma: os esteróides e triterpenóides foram pesquisados usando o teste de Lieberman-Burchard, os flavonóides foram rastreados pelo teste de Shinoda, os taninos foram identificados observando-se a formação de precipitados azuis após adição de FeCl₃, e as saponinas e alcalóides foram pesquisadas utilizando o teste de Drangendorff.

2.3 OBTENÇÃO E CULTIVO DOS MICRO-ORGANISMOS UTILIZADOS

Os micro-organismos foram obtidos do Laboratório de Microbiologia da Universidade Vale do Rio Doce (UNIVALE), identificados como E1 - E5 (linhagens de *Escherichia coli* uropatogênicas). Foram submetidas a identificação com o sistema automatizado Vitek 2.0 (version R04.02, bioMérieux), seguindo as instruções do fabricante. Todas as linhagens foram mantidas congeladas a -20 °C em caldo BHI (Difco, Becton Dickinson, USA) adicionado de 10% de glicerina. Para ativação dos cultivos, as alíquotas do cultivo congelado foram transferidas para o caldo BHI, suplementado com 5% de sacarose, e incubadas a 35 ± 2 °C. Após 24 horas, as culturas contendo as bactérias foram semeadas em placas de Petri contendo agar Nutrient (Difco, Becton Dickinson, USA) e colocadas em estufa a 37°C por 48 horas. Após visualização do crescimento, colônias das bactérias foram selecionadas e transferidas para o caldo BHI.

2.4 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

A CIM do extrato hidroalcoólico da raiz de *Glycyrrhiza glabra* (alcaçuz) foi determinada em microplacas de poliestireno de 96 poços estéreis conforme descrito anteriormente pelo nosso grupo (Pereira *et al.*, 2015). Resumidamente, as culturas bacterianas foram preparadas em caldo BHI na escala 0,5 de McFarland, sendo 100µL dispensados nos poços. Na sequência, foram adicionados 100µL do extrato hidroalcoólico das folhas de *Glycyrrhiza glabra* que foi diluído em série. As concentrações testadas variaram de 1mg/mL a 7,8µg/mL. As placas foram então incubadas em estufa bacteriológica a 35 ± 2 °C por toda a noite. Após este tempo, em cada poço, foram adicionados 10µL da solução de resazurina (Sigma-Aldrich Missouri, EUA) previamente diluída em água destilada estéril na concentração final de 0,001mg/mL, sendo as placas reicumbadas nas condições anteriores por 30 minutos. A CIM foi estabelecida como a menor concentração em que a coloração de resazurina manteve-se inalterada (sem modificação da cor azul para rosa). Todos os experimentos foram realizados em triplicatas independentes.

3 RESULTADOS

Os dados obtidos nos testes de atividade antimicrobiana de *Glycyrrhiza glabra* foram organizados na Tabela 1.

Tabela 1: Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato hidroalcoólico de folhas de *Glycyrrhiza glabra* sobre isolados clínicos de *E. coli*.

CEPAS	CIM (ug/ml)
E1	> 1000
E2	> 1000

E3	> 1000
E4	> 1000
E5	> 1000

Fonte da Imagem: Figueiredo *et al.* (2025)

4 DISCUSSÃO

A resistência bacteriana passou-se a ser questão de saúde pública, sendo, assim, uma ameaça crescente no tratamento de doenças infecciosas por microorganismos multirresistentes (Costa & Júnior, 2017).

A escolha da *E. coli* se deu por ser uma bactéria comum em infecções, sendo esta a principal causadora de infecções do trato urinário (Whelan *et al.*, 2023). São também causadoras de gastroenterites, podendo serem desencadeadas por cinco diferentes mecanismos, responsáveis por distintos quadros clínicos: *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) e a *E. coli* enteroagregativa-EAEC (Braz *et al.*, 2020). Apesar de ser um componente da microbiota normal do sistema gastrointestinal de humanos, são necessários testes específicos a fim de identificar possíveis cepas diarreio gênicas (Mims *et al.*, 1999).

A *E. coli* é uma bactéria bastante resistente a diversos antibióticos, como pela polimixina B, que em estudos revela que seria um dos últimos recursos no tratamento de infecções causadas por bactérias resistentes e que nenhuma outra droga foi capaz de combatê-las (Fernandes *et al.*, 2016; Olsson *et al.*, 2021; Meijden *et al.*, 2023).

Testou-se apenas até 1000ug/ml, pois esta foi a maior concentração do extrato empregado no estudo, uma vez que as concentrações mais altas não apresentaram atividade antimicrobiana, consequentemente, sendo de difícil aproveitamento no tratamento de infecções bacterianas (Mendes *et al.*, 2011).

No estudo realizado por Sedighinia e colaboradores (2012), testou-se o extrato etanólico de *G. glabra*, que exibiu valores maiores de CIM contra *E.coli*. Então, sua atividade antibacteriana sugere que a *G. glabra* possui maior atividade contra as bactérias gram positivas.

Em um estudo realizado por Figueiredo *et al.* (2013), extratos de produtos naturais de plantas foram associados com antimicrobianos e foram testados contra isolados de *S. aureus* e *E. coli* de seres humanos, sendo observado que esses extratos podem representar uma alternativa como produtos naturais com ação antimicrobiana, que são responsáveis pelo efeito positivo observado em seu estudo. Isso pode explicar as diferenças de resultados entre o presente trabalho e o realizado por Figueiredo *et al.* (2013), mostrando que associar adjuvantes antimicrobianos aos produtos de plantas naturais pode ser determinante para melhores resultados em pesquisas futuras.

Considerando que as cepas American Type Culture Collection (ATCC) apresentam respostas conhecidas, ao contrário dos isolados clínicos (Brumano *et al.*, 2011), o presente trabalho foi desenvolvido com diferentes cepas de *E. coli* com finalidade de obter a concentração mínima inibitória de cada uma delas frente ao extrato de *Glycyrrhiza glabra*.

5 CONCLUSÃO

O extrato *Glycyrrhiza glabra* (alcaçuz) nas concentrações estudadas não apresentou atividade sobre isolados clínicos de *Escherichia coli*. Conclui-se que novos estudos devem ser realizados para verificar a atividade desse extrato como antimicrobiano, e modificar a metodologia, usando adjuvantes na tentativa de melhorar o seu efeito, parece ser uma estratégia promissora.

REFERÊNCIAS

- ARAUJO, Márcio Martins de; LONGO, Priscila Larcher. Teste da ação antibacteriana in vitro de óleo essencial comercial de *Origanum vulgare* (orégano) diante das cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. *Arquivos Do Instituto Biológico*, São Paulo, 83: 1-7, mar. 2016.
- BOCCOLINI, Patrícia de Moraes Mello & BOCCOLINI, Cristiano Siqueira. Prevalence of complementary and alternative medicine (CAM) use in Brazil. *BMC complementary medicine and therapies*, 20(1), 51, fev. 2020.
- BRAZ, Vânia Santos *et al.* *Escherichia coli* as a Multifaceted Pathogenic and Versatile Bacterium. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 548492, dez. 2020.
- BRUMANO, Laissa Pereira *et al.* Estirpes bacterianas-padrão, formas de obtenção de doação e sua manutenção em laboratórios de ensino e pesquisa. *Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais*, 3: 21-26 jun. 2011
- COSTA, Anderson Luiz Pena da, & JÚNIOR Carlos Souza Silva. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. *Estação Científica (UNIFAP)*, 7(2): 45-57, mai-ago. 2017.
- DENAMUR, Erick *et al.* The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. *Nature reviews. Microbiology*, 19(1), 37–54, jan. 2021.
- DORSAREH, Fereshteh *et al.* Topical Licorice for Aphthous: A Systematic Review of Clinical Trials. *Iranian journal of medical sciences*, 48(5), 437–447, set. 2023.
- FERNANDES, Luana Leal, & GOIS, Rosineide Vieira. Avaliação das principais metodologias aplicadas às análises microbiológicas de água para consumo humano voltadas para a detecção de coliformes totais e termotolerantes. *Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente*, 2015; 6(2): 49-64, dec. 2015.
- FERNANDES, Miriam Rodriguez *et al.* Silent dissemination of colistin-resistente *Escherichia coli* in South America could contribute to the global spread of the *mcr-1* gene. *Eurosurveillance*. 21(17), abr. 2016.
- FIGUEREDO, Fernando *et. al.* Modulation of the Antibiotic Activity by Extracts from *Amburana cearenses* A. C. Smith and *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan. *Bio Med Research International*, Article ID 640682, dez. 2013.
- FLOR, Alessandra Simone Santos de Oliveira, & BARBOSA, Wagner Luiz Ramos. Sabedoria popular no uso de plantas medicinais pelos moradores do bairro do sossego no distrito do Marudá-PA. *Rev Bras Pl Med*. 2015; 17(4): 757-768, nov. 2015.
- FRANCO, Jonatan Martins Pereira Lucena *et al.* O papel do farmacêutico frente à resistência bacteriana ocasionada pelo uso irracional de antimicrobianos. *Rev Cien Semana Acadêmica*. 2015; 1(72): 1-17, 2015.

LOUREIRO, Rui João *et al.* O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. *Rev Port Saúde Pública*, 34(1): 77-84, jan-abr. 2016.

MARKWART, Robby *et al.* Epidemiology and burden of sepsis acquired in hospitals and intensive care units: a systematic review and meta-analysis. *Intensive care medicine*, 46(8), 1536–1551, ago. 2020.

MEIJDEN, Aart van der *et al.* Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of polymyxin B in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* murine infection models. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 78(3), 832–839, mar. 2023.

MENDES, Lorena Paula Mercês. Atividade Antimicrobiana de Extratos Etanólicos de *Peperomia pellucida* e *Portulaca pilosa*. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*, 32(1): 121-125, jun. 2011.

MIMS, Cedric. Microbiologia Médica: São Paulo: Manole; 2 ed. 1999; 584.

MURUGAN, Sasi Kumar *et al.* A flavonoid rich standardized extract of *Glycyrrhiza glabra* protects intestinal epithelial barrier function and regulates the tight-junction proteins expression. *BMC complementary medicine and therapies*, 22(1), 38, fev. 2022.

OLIVEIRA, Dayanne Rakelly *et al.* In vitro antimicrobial and modulatory activity of natural products silymarin and silibinin. *Journal Biomed Res Int*, mar. 2015.

OLSSON, Ana *et al.* Interactions of Polymyxin B in Combination with Aztreonam, Minocycline, Meropenem, and Rifampin against *Escherichia coli* Producing NDM and OXA-48-Group Carbapenemases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 65(12), e0106521, nov. 2021.

PEREIRA, Nayara *et al.* Antimicrobial Potential of *Passiflora alata* and *Piper methysticum* hydroalcoholic extracts, Phytotherapies of Anxiolytic-like Activity. *Journal of Applied Pharmaceutical Sciences*, 2(2): 31-33, ago. 2015.

POKHAREL, Pravil; DHAKAL, Sabin, & DOZOIS, Charles. The Diversity of *Escherichia coli* Pathotypes and Vaccination Strategies against This Versatile Bacterial Pathogen. *Microorganisms*, 11(2), 344, jan. 2023.

SEDIGHINIA, Fereshteh *et al.* Antibacterial activity of *Glycyrrhiza glabra* against oral pathogens: an in vitro study. *Avicenna J Phytomed*, 2(3): 118–124, mai. 2012.

WAHAB, Shadma *et al.* *Glycyrrhiza glabra* (Licorice): A Comprehensive Review on Its Phytochemistry, Biological Activities, Clinical Evidence and Toxicology. *Plants (Basel, Switzerland)*, 10(12), 2751, dez. 2021.

WHELAN, Shane; LUCEY, Brigid, & FINN, Karen. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC)-Associated Urinary Tract Infections: The Molecular Basis for Challenges to Effective Treatment. *Microorganisms*, 11(9), 2169, ago. 2023.