

# ESTUDO *in vitro* DA AÇÃO BACTERICIDA E/OU BACTERIOSTÁTICA DA PAPAÍNA<sup>1</sup>

STUDY *in vitro* OF BACTERICIDAL AND/OR BACTERIOSTATIC ACTION OF THE PAPAÍNE<sup>1</sup>

André Manfrini Barbosa de LIMA<sup>2</sup>, Eduardo dos Santos MATINS FILHO<sup>2</sup>, Raimundo Gladson CARVALHO<sup>3</sup> e Lacy Cardoso de BRITO JUNIOR<sup>4</sup>

**OBJETIVO:** avaliar a atividade bactericida e/ou bacteriostática de soluções de papaína, em diferentes volumes, à 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, 16% e 20% em culturas de *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* e *S. typhi*, obtidas e identificadas de materiais biológicos provenientes de pacientes atendidos em um laboratório particular de Belém - Pará. **MÉTODO:** colhidas amostras de cada uma das colônias de bactérias e realizado o repique das mesmas para tubos de ensaio contendo caldo Casoy, até obter-se uma suspensão com turbidez correspondente a 0,5% na escala de Mac Farland, denominada suspensão-mãe. Foram, então, preparados 08 tubos contendo 1,8ml de caldo Casoy, um grupo para cada espécie de bactéria e, em seguida, feito o repique de 200µl da suspensão-mãe em cada tubo. Posteriormente, adicionou-se 200µl, 400µl, 500µl, 1ml ou 2ml de solução de papaína nas concentrações a serem analisadas. Os controles foram realizados somente com as suspensões bacterianas, sem papaína, incubados a 37°C por 24 horas. Após esta incubação foi feito o repique de cada tubo para placas de Petri contendo Ágar Cled e incubação a 37°C por 24 horas. **RESULTADOS:** evidenciou-se crescimento bacteriano em todas as placas semeadas. **CONCLUSÃO:** não foi observado efeito bactericida ou bacteriostático, *in vitro*, associado à papaína.

**DESCRITORES:** papaína, Microbiologia, bactericidas.

---

1. Trabalho realizado no Laboratório de Patologia Geral – Imunopatologia e Citologia do Centro de Ciências Biológicas da UFPA em Parceria com o Laboratório de Patologia Clínica Dr Paulo C. Azevedo.

2. Biomédicos formados pela UFPA.

3. Biólogo Responsável pelo Setor de Microbiologia do Laboratório de Patologia Clínica Dr Paulo C. Azevedo

4. Professor Doutor Adjunto III do Instituto de Ciências Biológicas da UFPA.

5. Conflito de interesses: nenhum

## INTRODUÇÃO

A papaína é uma enzima de origem vegetal extraída do látex do mamão (*Carica papaya*), com atividade proteolítica derivada de uma mistura complexa de enzimas proteolíticas e peroxidases, conhecida, popularmente, como leite de mamão<sup>1,2,3,4,5,6</sup>, e amplamente utilizada na indústria de cosméticos e alimentar. Nas últimas décadas, porém, vários autores têm estudado e utilizado esta enzima, na sua forma bruta ou liofilizada, na Medicina sob diversas metodologias na tentativa de auxiliar, não só nos processos de cicatrização tecidual, devido ao seu poder de acelerar e promover o crescimento do tecido, como também no debridamento e limpeza de tecidos necrosados, desvitalizados e infectados, em função das suas ações proteolíticas e possivelmente bactericidas e bacteriostáticas<sup>4,5,7,8,9,10,11,12,13</sup>.

O debridamento químico pela utilização de enzimas proteolíticas, como a papaína, já é conhecido há muito tempo e, no Brasil, tem ganhado a preferência dos profissionais de saúde para esta finalidade nos últimos anos, principalmente, em decorrência do seu baixo custo, sua ação similar ao debridamento químico autolítico, e sua melhor eficácia em relação a este último, principalmente, por ser a papaína mais potente na lise de tecidos mortos e de maior seletividade a estes tecidos. E, também, por poder ser usada em, praticamente, em todos os tipos de feridas e ser menos agressiva ao tecido normal<sup>1,5,6,14</sup>. Entretanto, em diversas enfermidades crônicas, como a diabetes, a insuficiência circulatória venosa ou arterial, escaras de decúbito e nas insuficiências renais crônicas, as úlceras teciduais provocadas pelas mesmas, freqüentemente, estão associadas à necrose, com intensa perda tecidual, e risco aumentado de infecções, geralmente por contaminantes bacterianos<sup>5,10,15</sup>.

Destes contaminantes bacterianos capazes de infectar lesões ulcerativas de caráter crônico, como as descritas acima, segundo ROITT e cols.<sup>15</sup> e SMELTZER e BARE<sup>16</sup>, os de maior interesse hospitalar, por

serem capazes também de causar infecções hospitalares (nosocomiais) graves, septicemia, ou resistência a antibioticoterapia são *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella typh*; que por sua vez, estão, freqüentemente, associadas a fontes de infecção exógena, com especial destaque para as transmissões através do contato das mãos infectadas dos profissionais de saúde, e falhas técnicas em procedimentos de esterilização e desinfecção de ambientes e equipamentos.

Segundo dados da literatura<sup>16,17,18,19,20,21</sup>, porém, um processo de cicatrização tecidual não será completo até que a resposta inflamatória tenha sido devidamente controlada e o agente agressor removido juntamente com os detritos necróticos e o exsudato inflamatório, pelo menos de maneira suficiente para permitir o crescimento do tecido de granulação.

## OBJETIVO

Analisar as ações bacteriostáticas e/ou bactericidas in vitro de soluções de papaína, em diferentes concentrações e volumes, frente a cepas de *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella typh*, de interesse médico, em decorrência dos riscos associados às infecções hospitalares e septicemias.

## MÉTODO

### Cepas Bacterianas

Utilizadas colônias viáveis de *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella typhi* isoladas a partir de material biológico de pacientes atendidos em um laboratório particular de Belém-Pará e identificadas (bionumeradas) pelo método automático VITEK 60 no Setor de Bacteriologia do referido laboratório. Para tanto, as bactérias foram cultivadas em meio Agar Cled por 24 horas a 37 °C, com posterior repique das colônias para tubos contendo 4 ml de caldo Casoy estéril; separação dos grumos por

agitação mecânica, com auxílio de pérolas de vidro (4mm de diâmetro); e ressuspensão das mesmas a uma concentração de  $1,5 \times 10^8$  células/ml em tubos contendo 2ml de caldo Casoy estéril. Essa concentração de bactérias foi determinada por método colorimétrico com leitor VITEK colorimeter (product nº 52-1210) e comparada pelo método de turbidimetria ao grau 3.3 da escala de Mac Farland, para a produção da solução mãe.

### **Teste de Viabilidade das Cepas Bacterianas**

Os testes de viabilidade das cepas de bactérias, contidas nas soluções ajustadas para a concentração desejada ( $1,5 \times 10^8$  células/ml), foram realizados através da retirada de 0,001ml de cada solução, utilizando-se uma alça de platina calibrada (0,001ml) com posterior semeio em três placas de Petri contendo meio Ágar Cled e estocadas em estufa bacteriológica a 37° C por 24h, sendo os testes de viabilidade considerados positivos quando se obtinha 83% de crescimento de Unidades Formadoras de Colônias (UFC).

### **Preparação das Soluções de Papaína**

Utilizada papaína liofilizada 6.000UI/MG, proveniente da Índia (Lote de Fabricação EXC280212), Certificada pela Empresa ELY MARTINS de Ribeirão Preto-SP, onde cada grama de papaína liofilizada foi diluída em tubos do tipo Falcon estéreis contendo 100ml de água destilada deionizada para obtenção de soluções com concentrações correspondentes a 2% (2gr/100ml), 4% (4gr/100ml), 6% (6gr/100ml), 8% (8gr/100ml), 10% (10gr/100ml), 16% (16gr/100ml) e 20% (20grm/100ml) de papaína, tomando-se todos os cuidados para que a papaína não perdesse suas propriedades funcionais.

### **Procedimento Experimental**

A partir da preparação das soluções de bactérias na concentração de  $1,5 \times 10^8$  células/ml, 200µl destas soluções, de cada espécie de bactéria, foram colocadas, individualmente, em 08 tubos de ensaio

contendo 1,8ml de caldo Casoy estéril. Em seguida, os tubos foram identificados de acordo com cada agente bacteriano e numerados de 1 a 8, conforme a concentração da solução de papaína a ser utilizada em cada tubo, em volumes que também variaram de 200µl, 400µl, 500µl, 1ml ou 2ml por concentração a ser utilizada em todos os tubos. De tal modo que, o tubo nº 1 recebeu solução de papaína a 2%; o tubo nº 2 recebeu solução a 4%; o tubo nº 3 para solução de papaína a 6%; o tubo nº 4 solução de papaína a 8%; o tubo nº 5 solução a 10%; o tubo nº 6 para solução a 16%, tubo nº 7 solução de papaína a 20%, e o tubo nº 8 servindo de controle não recebendo solução de papaína. Posteriormente, todos os tubos foram, então, incubados em estufa bacteriológica, por 24 horas a uma temperatura constante de 37°C.

### **Avaliação da Atividade Bactericida e/ou Bacteriostática das Diferentes Concentrações e Volumes de Soluções de Papaína.**

Vinte e quatro horas após a incubação das soluções bacterianas, na concentração de  $1,5 \times 10^7$  células/ml em caldo Casoy estéril, com as várias soluções de papaína em concentrações e volumes variados, em estufa bacteriológica a 37° C, estas foram repicadas de todos os tubos, com alça de platina calibrada 0,001ml, descartável, em placas de Petri, previamente identificadas e também descartáveis, contendo o meio Agar Cled. Em seguida, as placas foram novamente incubadas por 24h a 37° C, e posteriormente feitas as contagens do número de Unidades formadoras de colônias (UFC), em cada uma das mesmas para a determinação das possíveis ações bactericida e/ou bacteriostática das várias solução de papaína em concentrações e volumes específicos, frente as várias espécies bacterianas estudadas.

### **RESULTADOS**

Nesta pesquisa para a verificação da ação bactericida e/ou bacteriostática de soluções de papaína, in vitro, nas

concentrações de 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, 16% e 20%, em volumes de 200µl, 400µl, 500µl, 1ml ou 2ml por tubo, associado às culturas de colônias de *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* ou *Salmonella typhi* e após o semeio destas culturas em placas meio Cled, para a contagem das unidades formadoras de colônias, verificou-se que em todas as associações de concentrações/volumes de soluções de papaína houve crescimento bacteriano de incontáveis colônias.

## DISCUSSÃO

Nas condições estabelecidas neste estudo, de concentrações/volume de soluções de papaína, não foi possível demonstrar quaisquer tipos de ações bactericidas e/ou bacteriostáticas da papaína sobre as bactérias analisadas. Estes dados são semelhantes aos relatados por ALVAREZ e cols.<sup>22</sup> que afirmam que a papaína, isoladamente, tem pouca atividade bactericida e bacteriostática, sendo necessário para potencializar estas atividades, segundo estes autores, que esta enzima esteja associada a um agente ativador, como a uréia, principalmente na formulação de géis de uso tópico.

Segundo JORGE e DANTAS<sup>5</sup>, por sua vez, a diminuição das atividades bactericidas e bacteriostáticas da papaína, *in vitro*, frente a bactérias do tipo *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella typhi*, dependeriam da composição da membrana da bactéria em questão e não da concentração ou volume da papaína administrada.

Estudos *in vivo*, entretanto, não têm mostrado esta dependência das atividades bacteriostáticas e bactericidas da papaína a sua associação com a uréia, ou mesmo as características das bactérias em estudo<sup>5,9,10,11,14</sup>.

UDOD e STOROJUK<sup>10</sup> em seus estudos *in vivo*, com 182 pacientes com feridas cutâneas purulentas em várias regiões do corpo, por exemplo, observaram que a utilização de papaína não só facilitou a

limpeza da área necrosada, com a retirada do tecido morto, como também facilitou a liquefação e retirada da secreção purulenta em todos os pacientes analisados. Ativando e auxiliando os processos de regeneração tecidual, através das atividades de debridação enzimática, antiinflamatórias e bactericidas da papaína; e diminuição do tempo de cicatrização.

ROGENSKI e cols.<sup>11</sup>, por sua vez, em seus estudos *in vivo* com pacientes que apresentavam infecções viscerais graves infectadas com *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter sp.*, *Enterococcus faecalis* e/ou *Escherichia coli*, com prognóstico desfavorável e sem resposta às terapêuticas convencionais, quando tratados com solução de papaína nas concentrações de 4%, 2% e 1%, demonstraram excelentes resultados não só com a melhora da resposta dos pacientes ao tratamento aplicado, quando comparada com a terapêutica convencional, como também, com a diminuição da quantidade de secreção purulenta presente nas lesões e do tempo de cicatrização das mesmas.

OTUKA e cols.<sup>9</sup>, também em estudos *in vivo*, com um grupo de pacientes hansenianos que apresentavam úlcera plantar e que foram tratados com curativos a base de soluções de papaína a 2%, de acordo com a técnica padronizada por MONETTA<sup>23</sup>, verificaram que nestes pacientes além do processo de cicatrização ter sido mais rápido e mais eficaz, que os tratados com metodologia convencional, houve resolução dos quadros supurativos destas lesões.

## CONCLUSÃO

As soluções de papaína, nas condições estabelecidas para este estudo *in vitro* com bactérias como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella typhi*, mesmo em concentrações e volumes diferentes, não foram capazes de exercer ações bactericidas e/ou mesmo bacteriostáticas, ainda que vários estudos *in vivo* demonstrem o contrário, sugerindo como hipótese que, possivelmente, *in vivo*, a papaína tenha uma ação

imunomoduladora sobre a resposta inflamatória local e que seria, graças a esta imunomodulação da resposta inflamatória local, que a papaína exerceria ação benéfica para a eliminação do agente agressor, de forma local.

compõem a equipe do Laboratório de Patologia Clínica Dr. Paulo C. Azevedo, pelo apoio logístico e técnico dado para o desenvolvimento deste trabalho.

## AGRADECIMENTO

Agradecemos, cordialmente, à Dra. Leila Cristina Tembra, ao Dr Paulo Sergio Roffe Azevedo e todos os demais membros que

## SUMMARY

### **STUDY *in vitro* OF BACTERICIDAL AND/OR BACTERIOSTATIC ACTION OF THE PAPAINE.**

André Manfrini Barbosa de LIMA, Eduardo dos Santos MATINS FILHO, Raimundo Gladson CARVALHO e Lacy Cardoso de BRITO JUNIOR

**OBJECTIVES:** evaluate the bactericidal and/or bacteriostatic activities of 2, 4, 6, 8, 10, 16 and 20% solutions of papaine on cultures of *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* and *S. typhi*, obtained from biological samples collected from patients attended at the laboratory in Belém, Pará. **METHODS:** the previously-isolated bacteria were grown in test tubes containing Casoy medium broth, till the broth attained a turbidity of 0.5% on the Mac Farland scale, to form the stock suspensions. Then, 200µl of the stock suspension of each bacteria was inoculated into each of eight test tubes, each containing 1.8 ml of Casoy broth. Various volumes (200µl, 400µl, 500µl, 1ml or 2ml) of each of the papaine solutions were added to the inoculated broth in the tubes. Controls consisted of bacteria-inoculated broth, without papaine. All the tubes were incubated at 37°C for 24 hours. After incubation, the bacteria from the tubes were inoculated onto Petri dishes containing Cled agar and incubated at 37°C for 24 hours. **RESULTS:** was evidenced bacteria grew in all of the inoculated plates. **CONCLUSIONS:** no bactericidal or bacteriostatic effects, *in vitro*, associated papaine.

**KEYWORDS:** papaine, microbiology, bactericides.

## REFERÊNCIAS

1. Monetta L. – Análise evolutiva do processo de cicatrização em Úlceras diabéticas, de pressão e venosa com uso da papaína. Dissertação de Mestrado. São Paulo: EEUSP, 1998.
2. Sanchez Neto, R.; Barone, B.; Teves, D. C.; Simões, M. J.; Novo, N. F.; Juliano, Y. – Aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas de ratos com e sem tratamento com solução de papaína a 2%. Acta Cir Bras. 1993, 8(1);18-23.
3. Wiseman, A. – Topics in enzyme and fermentation biotechnology. Chichester, Ellis Horwood, 1990.
4. Starkov, G. L., et al. – Papain as a therapeutic enzyme in medicine. Klin Med., Moscou, 56(8):89-122, 1978.
5. Jorge, S.A. & Dantas, S.R.P.E. Abordagem Multiprofissional do Tratamento de feridas. Editora Atheneu. 2003.

6. Monetta, L. –Utilização de Novos Recursos em Curativos num Consultório de Enfermagem. Rev Paul Enferm. 1992, 11(1):19-26.
7. Guzman, A. V. & Guzman, M. G. S. – The enzymatic debridement of suppurations, necrotic lesions and burns with papain. J Int Coll Surg. 1953, 20:695-702.
8. Di Pasquale, G.; Tripp, L.; Steinetz, B. G. – Effect of lysosomal labilizers and pro-inflammatory substances on connective tissue repair as measured by tensile strength. Proc Soc Exp Med. 1968, 127:529-32.
9. Otuka E.S., Pedrazzani E.S., Pioto M.P.: Uso da papaína na úlcera plantar. Rev Bras Enferm. 1996;49:207-14.
10. Udod, V. M. & Storojuk, V. T. – Use of papain in treating suppurative postoperative soft tissue complications and diseases. Khirurgia (Mosk), 1981, 5:99-101.
11. Rogenski , N. M. B. et al. – Uso de papaína em infecções de vísceras. Rev Bras Enferm. 1995;48:140-3.
12. Nagapetyan, Bagdasaryan, R. V.; Matinyan, L.A.; Mirzoyan, V. S. – Treatment of purulent wounds with lecopian in outpatient clinica. Khirurgia (Mosk), 1986;6:17-21.
13. Masini E., Calamo M.A.: Uma forma de tratamento de lesões cutâneas com papaína e sacarose. Rev Bras Clin Terap. 1986;15:245-8.
14. Rogenski , N. M. B.; Baptista, C. M. C.; Sofia, M. H. – O uso da papaína a 2% nas lesões provocadas pela Síndrome de Fournier: a proposito de 14 casos. Rev Paul Enferm. 1998;17:39-45.
15. Roitt et al., - Microbiologia Médica 2ª ed. In: Infecção hospitalar, Esterilização e Desinfecção. São Paulo, Manole, p. 481-499, 2007.
16. Smeltzer, S. C. & Bare, B. G., O paciente com a integridade da pele prejudicada e tratamento de pacientes com doenças infecciosas. Tratado de Enfermagem, Brunner & Suddarth, 9ª ed, Guanabara koogan, 2002. p 128-134 e 1791-1800.
17. Balbino, C.A.; Pereira, L.M. E Curi, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. Rev Bras Cien Farma. 2005;41:27-51.
18. Contran, R S.; Kumar, V.; Collins, T. Robbins: Patologia estrutural e funcional. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 44-100.
19. Tiago, F. Feridas: etiologia e tratamento. 2.ed. CBL. São Paulo:1995.
20. Gonçalves, G.;Parizotto, N. A. Fisiologia da Reparação Cutânea: Atuação da Fisioterapia. Rev Bras Fisiot. 1998;3:5-13.
21. Mandelbaum, S. H., Di Santis, E. P E Mandelbaum, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I e II. An Bras Dermatol. 2003;78:521-522.
22. Alvarez et al. Chemical debridement of pressure ulcers: a prospective, randomized, comparative trial of collagenase and papain/ureia formulations. Wounds, 2001, 12 (2).
23. Monetta L. – A importância da atuação científica do enfermeiro na execução dos curativos feitos com papaína. Rev Bras Enferm. 1990;9:83-7.
24. Monetta, L. – Uso da papaína nos curativos feitos pela enfermagem. Rev Bras Enferm. 1987;40:66-73.

**Endereço para Correspondência:**

Prof. Dr. Lacy Cardoso de Brito Junior  
 Universidade Federal do Pará  
 Instituto de Ciências Biológicas  
 Lab. de Patologia Geral - Imunopatologia e Citologia  
 Av. Augusto Corrêa n 01.  
 Bairro Guamá - CEP 66075-900  
 Belém – Pará Fones: (091) 32017565  
 e-mail: [lcdbrito@ufpa.br](mailto:lcdbrito@ufpa.br) ou [lcdbrito@bol.com.br](mailto:lcdbrito@bol.com.br)

Recebido em 19.01.2009 – Aprovado em 10.11.2009