

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL SINÉRGICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E ANTIBIÓTICOS FRENTE A CEPAS DE *Salmonella* spp ISOLADAS DE FIAMBRES E EMBUTIDOS

KAMILA FURTADO DA CUNHA¹; CRISTIANE DA SILVA MEYER²; SUZANE OLACHEA ALLEND²; DANIELA RODRIGUEIRO WOZEAK²; PRISCILA KRUGER VOIGT²; GLADIS AVER RIBEIRO³

¹Universidade Federal de Pelotas – kamilafurtado1@hotmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – crismeyersls@hotmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – suzane.olachea@yahoo.com.br

² Universidade Federal de Pelotas – danielarwozeak@gmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – privvoigt@hotmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – gladisaver@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais (OE) são uns dos extratos vegetais mais utilizados para fins medicinais, tendo seu uso estimulado pela procura de substâncias ativas biologicamente, biodegradáveis, de baixa toxicidade e eficazes, principalmente sobre micro-organismos, onde a atividade bactericida e/ou bacteriostática é dada principalmente por seus compostos terpenóides (PROBST, 2012).

Os produtos de origem animal são considerados como as principais fontes de contaminação microbiana, principalmente os produtos a base de carne, seja por micro-organismos patógenos ou deteriorantes (BAÚ, 2012). Dentre os patógenos, um dos mais importantes é *Salmonella* spp. devido a sua alta patogenicidade, sendo um dos mais importantes agentes de infecções alimentares (SALVATORI, 2003), a qual vem apresentando um perfil de resistência a antimicrobianos.

Com o aumento na incidência de bactérias de origem alimentar resistentes aos antimicrobianos, se faz necessário o uso de alternativas que sejam eficientes frente a esses micro-organismos, como o uso de OE. Sua composição tem demonstrado ser uma alternativa eficaz no controle bacteriano, sendo utilizado sozinho ou associado a outros antimicrobianos, podendo intensificar (atividade sinérgica) ou inibir (atividade antagônica) o efeito dessas drogas (ZAGO, 2009). Atualmente vários estudos têm avaliado o potencial antibacteriano de OE, dentre eles podem ser citados estudos com óleos de *Eugenia uniflora* L. (Pitanga) e *Rosmarinus officinalis* L. (Alecrim).

Frente à problemática exposta, o objetivo do presente trabalho foi verificar o potencial sinérgico dos óleos essenciais de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) frente a cepas bacterianas de *Salmonella* spp. isoladas de fiambres e embutidos, e de *Salmonella* ATCC 14028.

2. METODOLOGIA

Os óleos essenciais de *Eugenia uniflora* L. (Pitanga) e *Rosmarinus officinalis* L. (Alecrim), assim como a *Salmonella* ATCC 14028, pertenciam ao Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia, do Instituto de Biologia, da Universidade Federal de Pelotas

Os testes foram realizados de acordo com a Técnica de Difusão em Disco segundo KIRBY e BAUER (1966). Os antibióticos utilizados foram: Tetraciclina (30 µg), Gentamicina (10 µg), Ampicilina (10 µg), Nitrofurantoína (300 µg),

Norfloxacina (10 µg), Estreptomicina (300 µg) e Penicilina (10 µg), os quais foram adicionados em placas contendo Ágar Muller Hinton semeadas com o inoculo ($1,5 \times 10^8$ UFC. mL⁻¹) de cada cepa bacteriana. Para os testes de verificação da atividade biológica dos OE, foram adicionados 10 µL do OE em estudo sobre discos de papel filtro estéreis colocados sobre as placas de Ágar Muller Hinton já semeadas com o inoculo, tendo como controle negativo, discos de papel filtro contendo 10 µL de água destilada estéril, e o controle positivo discos do antibiótico Gentamicina (10 µg), sendo o teste foi realizado em duplicata. Para o teste de sinergismo, foi adicionado 10 µL dos óleos essenciais sobre os discos de antibióticos utilizados. Após isso, ambos os testes forma incubados por 24h a 36°C.

Ao fim do período de incubação, para a leitura do teste de antibiograma, foi feita a medição do halo com régua milimetrada e o resultado foi comparado à tabela padrão para verificar o grau de sensibilidade das bactérias testadas. O teste de sinergismo foi comparado ao resultado do antibiograma a fim de verificar a ação do OE.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos no teste de antibiograma, todas as cepas testadas apresentaram-se resistentes a Penicilina, porém sensíveis aos demais antibióticos, com exceção da cepa I, que apresentou resistência a Ampicilina também.

Nos testes com os OE em suas concentrações máximas, o OE pitanga não teve efeito frente às bactérias testadas, diferente de alecrim, o qual demonstrou inibição no crescimento das bactérias testadas corroborando com o trabalho de HENZ e SANTIN (2007), que também observou ação antibacteriana deste mesmo óleo na sua concentração máxima frente a *Salmonella* spp. pela mesma técnica utilizada nesse trabalho. No trabalho de NASCIMENTO (2013), o OE de pitanga não teve ação biológica diante de bactérias Gram-negativas, mesmo resultado encontrado em nosso estudo.

Os resultados obtidos no teste de sinergismo para o óleo essencial de pitanga estão indicados na Tabela 1 abaixo, onde nota-se que o OE ao ser testado com os antibióticos, frente à maioria dos isolados, teve ação antagônica, ou seja, causando a diminuição no tamanho do halo de inibição anteriormente verificado no teste de antibiograma. A cepa II passou a ser resistente a Ampicilina, assim como a cepa III, que também teve sua sensibilidade alterada a Nitrofurantoína, que passou de sensível a intermediária. VITÓRIA et. al. (2012) observou que o OE de *E. uniflora* L. teve ação antifúngica e antibacteriana frente a bactérias Gram-positivas, entretanto quanto testadas frente a *Salmonella* ATCC 14028 não foi observada ação antibacteriana, assim como no presente trabalho.

Os resultados obtidos no teste de sinergismo para o óleo essencial de alecrim estão indicados na Tabela 2 abaixo, onde este apresentou uma tendência de interação positiva entre o OE e as drogas utilizadas, aumentando o halo de inibição, em boa parte dos mesmos. Estudos realizados por RIBEIRO et. al. (2012) demonstraram que o OE *R. officinalis* L. teve ação sinérgica quando combinado com Ampicilina, Tetraciclina e Nitrofurantoína, modulando a resistência de cepas de *Salmonella* spp., resultados semelhantes aos obtidos em nosso estudo. A cepa I de *Salmonella* spp. no teste de antibiograma apresentou resistência a Ampicilina e ao ser testada com o óleo de alecrim demonstrou sensibilidade intermediária a esse antibiótico.

Importante ressaltar que em ambos os testes de sinergismo observou-se presença de colônias satélites, onde foram observadas mais e frequentemente (indicados na Tabela 1 e 2) para OE de pitanga do que para o de alecrim, fato que pode indicar a existência de uma diversidade populacional entre os isolados testados.

Tabela 1: Potencial sinérgico do óleo essencial de Pitanga frente a cepas de *Salmonella* spp.

	Antimicrobianos						
	AMP	EST	GEN	NOR	NIT	PEN	TET
Cepa I	-*	+	0*	-	-*	-	-*
Cepa II	-	0	-	-	-	-	-
Cepa III	-*	-*	-	+	-	-	+
'ATCC14028	-*	-*	+	-	+	+*	-

TET: Tetraciclina; GEN: Gentamicina; AMP: Ampicilina; NIT: Nitrofurantoína; NOR: Norfloxacina; PEN: Penicilina; EST: Estreptomicina; +: ação sinérgica; -: ação antagônica; 0: sem ação; *: presença de colônias satélites

Tabela 2: Potencial sinérgico do óleo essencial de Alecrim frente a cepas de *Salmonella* spp.

	Antimicrobianos						
	AMP	EST	GEN	NOR	NIT	PEN	TET
Cepa I	+	-	-	-	-	+	-
Cepa II	0	+	-	+		+	+
Cepa III	+*	-	-	+	-	+*	-
ATCC14028	0	+	-	0	+	+*	+

TET: Tetraciclina; GEN: Gentamicina; AMP: Ampicilina; NIT: Nitrofurantoína; NOR: Norfloxacina; PEN: Penicilina; EST: Estreptomicina; +: ação sinérgica; -: ação antagônica; 0: sem ação; *: presença de colônias satélites

A composição do OE varia de acordo com a espécie vegetal, forma de extração, fatores ambientais dentre outros fatores. Acredita-se que a ação dos OE seja em parte pela natureza hidrofóbica, por interagir com a dupla camada lipídica da membrana, podendo tornar a célula mais permeável aos antibióticos ou por afetar o metabolismo celular (LUCENA, 2015).

A origem das linhagens bacterianas testadas pode influenciar a ação dos OE, e consequentemente na sua interação com os antibióticos, devido características estruturais da bactéria. Geralmente bactérias Gram-negativas apresentam menor sensibilidade quando expostas aos OE, acredita-se que seja provavelmente devido à presença de membrana externa de lipopolissacarídeos (LPS) presente neste tipo de bactérias, pois confere considerável impermeabilidade aos compostos antibacterianos atribuindo maior resistência dessas bactérias a ação de substâncias antibacterianas (PROBST, 2012).

4. CONCLUSÕES

Pode-se concluir que o óleo essencial de *R. officinalis* L. apresentou "in vitro" algum aumento na ação dos antibióticos frente as cepas de *Salmonella* spp., ao contrário do óleo essencial de *E. uniflora* L. que demonstrou uma diminuição no perfil de sensibilidade das bactérias testadas.

O estudo indica uma futura possibilidade de uso de produtos naturais combinados aos antibióticos tradicionais, com o intuito de aumentar o potencial antimicrobiano de drogas, porém são necessários mais testes a fim de comprovar essa eficácia.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAU, T. R.; DIAS, C. A.; ALFARO, A. T.; Avaliação da qualidade química e microbiológica de salsichas tipo Viena. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 71, n.1, p. 207-210, 2012.
- BAUER, A.W.M.M.; KIRBY, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45, n.3, p. 493-496, 1966.
- HENZ, S. M.; SANTIN, N. C. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) contra *Salmonella* spp. Evidência, Joaçaba, v.7, n.2, p. 93 – 100, 2007.
- LUCENA, B. F. F.; TINTINO, S. R.; FIGUEREDO, F. G.; OLIVEIRA, C. D. M.; AGUIAR, J. J. S.; CARDOSO, E. N. C.; AQUINO, P. E. A.; ANDRADE, J. C.; COUTINHO, H. D. M.; MATIAS, E. F. F. Avaliação da atividade antibacteriana e moduladora de aminoglicosídeos do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. **Acta Biologia Colombiana**, Bogotá, v. 20, n.1, p. 39-45, 2015.
- NASCIMENTO, A. L. D. R. **Ação antimicrobiana do extrato de *Eugenia uniflora* L. (Pitanga) sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli***. 2013. Tese (Trabalho de conclusão de Curso)- Graduação Bacharelado em Farmácia, Universidade Federal da Paraíba.
- PROBST, I. S. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação do potencial sinérgico**. 2012. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada)- Curso de Pós Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Universidade Estadual Paulista.
- RIBEIRO D. S.; MELO, D. B.; GUIMARÃES, A. G., VELOZO, E. S. Avaliação do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) como modulador da resistência bacteriana. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 687-696, 2012.
- SALVATORI, R. U.; BESSA, M. C.; CARDOSO, M. R. I.; Qualidade sanitária de embutidos coletados no mercado público central de Porto Alegre-RS. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n.4, p. 771-773, 2003.
- VITORIA, F. N.; LENARDÃO, E. J.; SAVEGNAGO, L.; PERIN, G.; JACOB, R. G.; ALVES, D.; SILVA, W. P.; MOTTA, A. S.; NASCENTE, P. S. Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: Antioxidant and antimicrobial properties. **Food and Chemical Toxicology**. v. 50, n.8, p. 2668-2674. 2012.
- ZAGO, J. A. A.; USHIMARU, P. I.; BARBOSA, L. N.; JUNIOR, A. F. Sinergismo entre óleos essenciais e drogas antimicrobianas sobre linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 19, n. 4, p. 828 – 833, 2009.