

ATIVIDADE INIBITÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Origanum majorana* L. (MANJERONA) FRENTE A ISOLADOS DE *Salmonella* E *Staphylococcus* COAGULASE POSITIVOS

ELISA ISQUIERDO DA LUZ¹; BRUNA MURADÁS ESPERON²; MARIA FERNANDA FERNANDES SIQUEIRA³; MARCELLE OLIVEIRA GARCIA⁴; HELENICE DE LIMA GONZALEZ⁵; RITA DE CÁSSIA DOS SANTOS DA CONCEIÇÃO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – elisaisquierdo@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – bruna_esperon@yahoo.com.br

³Universidade Federal de Pelotas – maria.fernanda.fs97@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – marcelle_garcia@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – helenicegonzalez@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – ritinhaconceicao@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A atividade antimicrobiana exercida pelos óleos essenciais tem sido descrita em uma ampla variedade de microrganismos, tanto em bactérias Gram positivas, como em Gram negativas, os quais respondem de forma distinta e dependente da concentração química do óleo utilizado (BOULANOUAR et al., 2013; BURT, 2004). Segundo a ANVISA (BRASIL, 2007), óleos essenciais são produtos voláteis de origem vegetal, obtidos por um processo físico, como destilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida ou outro método adequado. A ação inibitória do óleo pode afetar tanto a superfície externa quanto o citoplasma das células bacterianas, sendo a membrana celular o principal alvo. Isto ocorre devido à hidrofobicidade destes óleos e de seus componentes, que permitem que eles se difundam através da bicamada fosfolipídica (NAZZARO et al., 2013).

Vários microrganismos patogênicos podem ser encontrados no produto final e dentre estes destacam-se *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp. Entre 2000 e 2013, o principal agente etiológico identificado em doenças de origem alimentar foi *Salmonella*, sendo responsável por 39,39% dos surtos ocorridos no Brasil (BRASIL, 2013). Baseado no exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Origanum majorana* L. (Manjerona) frente a isolados de *Staphylococcus* coagulase positivos e de *Salmonella* spp.

2. METODOLOGIA

2.1. Isolados Bacterianos

Foram analisados nove isolados de *Salmonella*, obtidos de embutidos frescos e 17 isolados de *Staphylococcus* produtores da enzima coagulase. As amostras de produtos de origem animal foram adquiridas em supermercados da região de Pelotas – RS, Brasil, e encaminhadas ao Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA), da Faculdade de Veterinária, da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) para análise. Após o isolamento de *Salmonella* e confirmação por sorologia, os isolados foram estocados em glicerol e mantidos a -18°C.

No caso de *Staphylococcus*, após a realização da prova da coagulase, os isolados coagulase positivos foram também armazenados em BHI com glicerol e mantidos a -18°C. Os isolados de *Staphylococcus* foram obtidos de leite,

equipamentos e utensílios envolvidos na ordenha, sendo estes provenientes de cinco propriedades diferentes da região de Pelotas, RS.

2.2. Obtenção do Óleo Essencial

Foi utilizado o óleo de *Origanum majorana* L (manjerona), obtido comercialmente, em frasco âmbar, lacrados, com volume de 10 mL (Ferquima – Indústria e Comércio de Óleos Essenciais).

2.3. Método de Disco-Difusão

A suscetibilidade dos isolados ao óleo foi avaliada pelo método de disco-difusão de BAUER et al. (1966). Inicialmente, os isolados foram semeados em caldo Infusão Cérebro e Coração (BHI, Acumedia) e incubados a 37°C/24 horas. Após incubação, a densidade ótica de cada cultivo bacteriano foi padronizada com o auxílio de um espectrofotômetro, sendo esta equivalente ao padrão 0,5 da Escala de McFarland. Os isolados de *Salmonella* spp e de *Staphylococcus* produtores da enzima coagulase foram semeados com o auxílio de um swab estéril em placas contendo ágar Mueller-Hinton (Acumedia, USA). Em cada placa foi semeado 200 µL do cultivo com densidade ótica padronizada, como mencionado anteriormente. Discos de papel filtro (6 mm) foram colocados nas placas e em seguida, 5 µL do óleo essencial foram adicionados em cada disco para a difusão do mesmo no meio de cultivo. O experimento foi realizado em triplicata para cada isolado e papel filtro embebido com solução salina estéril foi utilizado como controle negativo. Após incubação por 24 horas em estufa bacteriológica a 37°C, os diâmetros dos halos de inibição foram medidos com o auxílio de um paquímetro e a atividade antibacteriana do óleo de manjerona foi considerada quando os halos formados apresentavam diâmetro superior a 12 mm (ROTA et al., 2008). Duas cepas ATCC foram utilizadas no experimento, sendo uma de *Salmonella Typhimurium* ATCC 13311 e uma de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados demonstrados nas Tabelas 1 e 2, pode-se verificar que o óleo de manjerona teve uma ação inibitória em oito (88,9%) dos nove isolados de *Salmonella* testados, apresentando um halo de inibição superior a 12 mm, sendo esta ação inibitória também observada em cinco (29,4%) isolados de *Staphylococcus*. O efeito inibitório do óleo não foi observado nas cepas ATCC usadas neste experimento. Assim como, em um isolado (11,1%) de *Salmonella* e em 12 (70,6%) de *Staphylococcus*, podendo isto ser observado nas Tabelas 1 e 2.

A partir dos resultados encontrados pode-se também verificar que os isolados de *Salmonella* apresentaram uma maior susceptibilidade frente ao óleo testado. Uma explicação possível para a diferença encontrada pode ser decorrente da existência de diferenças na estrutura da parede bacteriana das bactérias Gram negativas e Gram positivas. Além disso, alguns óleos essenciais podem apresentar substâncias que penetram mais facilmente pela camada lipídica que outras (BERTINI et al., 2005). Resultado este também observado por OMARA et al. (2014), que verificam a sensibilidade do óleo de *Origanum majorana* L. (manjerona) sobre bactérias Gram negativas e Gram positivas e verificaram que os isolados testados foram suscetíveis a 100% a ação do óleo, com um diâmetro de inibição de 13 a 19,20 mm, sendo *Salmonella* o microrganismo testado mais sensível à ação antimicrobiana do óleo testado com a mais forte zona de inibição (19,20 mm). Neste estudo, os isolados de



Salmonella apresentaram halos de inibição que variaram de 08 a 17 mm, apresentando a maior zona de inibição frente aos isolados Gram negativos e Gram positivos testados.

Tabela 1. Atividade inibitória de *Origanum majorana* L. (manjerona) frente a isolados de *Salmonella* spp.

Identificação dos Isolados	Densidade Ótica (A_{600})	Diâmetros dos Halos (mm)*
46	0,514	13
62	0,562	13
65	0,568	14
66	0,535	16
68	0,538	13
85	0,526	14
69	0,568	16
101	0,595	17
156	0,582	08
Cepa ATCC 13311	0,535	09

*: o resultado representa a média da triplicata.

TRAJANO et al. (2009) avaliaram a atividade inibitória de *Origanum majorana* (manjerona) frente a 10 cepas bacterianas deteriorantes e patogênicas e verificaram uma ação inibitória do óleo frente a cepa de *Staphylococcus aureus* e nenhuma ação antibacteriana na cepa de *Salmonella* testada. Dado similar ao obtido neste experimento, visto que o óleo utilizado também não teve nenhuma ação inibitória sobre a cepa ATCC de *Salmonella* testada.

Tabela 2. Atividade inibitória de *Origanum majorana* L. (manjerona) frente a isolados de *Staphylococcus* produtores da enzima coagulase.

Identificação dos Isolados	Densidade Ótica (A_{600})	Diâmetros dos Halos (mm)*
1402	0,509	04
1377	0,574	13
1342	0,525	10
1380	0,529	11
1237	0,565	06
1378	0,509	11
1268	0,561	09
1236	0,530	08
1242	0,545	09
1202	0,500	15
1210	0,512	13
1214	0,527	09
1216	0,529	14
1190	0,501	16
1197	0,576	07
1201	0,519	10
1246	0,586	10

Cepa ATCC 25923

0,566

09

*: o resultado representa a média da triplicata

4. CONCLUSÕES

Analizando os resultados obtidos, pode-se verificar que a ação inibitória do óleo de *Origanum majorana* (Manjerona) utilizado foi observada em oito (88,9%) isolados de *Salmonella* testados e em cinco (29,4%) de *Staphylococcus*. Estes resultados demonstram a possibilidade de utilização deste óleo como uma fonte de compostos antimicrobianos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAUER, A.W.; KIRBY, E.; SHERRIS, E.M.; TURK, M. Antibiotic by standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45, p.493-496, 1966.

BERTINI, L. M.; PEREIRA, A. F.; OLIVEIRA, C. L. L.; MENEZES, E. A.; MORAIS, S. M.; CUNHA, F. A.; CAVALCANTI, E. S. B. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. **Infarma**, Brasília, v.17, n:3/4, p.80-83, 2005.

BOULANOUAR, B.; ABDELAZIZ, G.; AAZZA, S.; GAGO, C.; MIGUEL, M.G. Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. **Industrial Crops and Products**, v.46, p.85-96, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 2, de 15 de janeiro de 2007. Regulamento sobre Aditivos Aromatizantes. Diário Oficial da União, DF, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde - SVS. 2013. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/arquivos/pdf/dados_DTA_periodo_2000-2013_site.pdf>.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, p.223-253, 2004.

NAZZARO, F.; FRATIANNI, F.; DE MARTINO, L.; COPPOLA, R.; DE FEO, V. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. **Pharmaceuticals**, v.6, n.12, p.1451-1474, 2013.

OMARA, S.T.; ABD EL- MOEZ, S.I.; MOHAMED, A.M. Antibacterial Effect of *Origanum majorana* L. (Marjoram) and *Rosmarinus officinalis* L (Rosemary) Essential Oils on Food Borne Pathogens Isolated From Raw Minced Meat in Egypt. **Global Veterinaria**, v.13, n.6, p.1056-64, 2014.

ROTA, M.C.; HERRERA, A.; MARTÍNEZ, R.M.; SOTOMAYOR, J.A.; JORDÁN, M.J. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. **Food Control**, v.19, p.681-686, 2008.

TRAJANO, V.N; LIMA, E.O.; SOUZA, E.L.; TRAVASSOS A.E.R. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n.3, p.542-545, 2009.