

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE TOMILHO (*Thymus vulgaris* L.), MANJERONA (*Origanum majorana* L.), NOZ MOSCADA (*Myristica fragans* L.) E SÁLVIA (*Salvia sclarea* L.) FRENTE A ISOLADOS DE *Staphylococcus aureus*

GABRIELE BENATTO DELGADO¹; MARCELLE OLIVEIRA GARCIA²; FLÁVIA LIÉGE SCHÜTZ VOLOSKI³; RITA DE CÁSSIA DOS SANTOS CONCEIÇÃO⁴;
EDUARDA HALLAL DUVAL⁵

¹ Graduanda em Medicina Veterinária – Universidade Federal de Pelotas –
gabriele_delgado@hotmail.com

^{2, 3} Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal de Pelotas – marcelle_garcia@hotmail.com, fla_voloski@hotmail.com

^{4,5} Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal/ Universidade Federal de Pelotas –
ritinhaconceicao@hotmail.com; eduardahd@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por alimentos (DTA's) constituem um grande problema de saúde pública, tanto no Brasil como em diversos países, sendo responsáveis por elevados custos econômicos e sociais. Dentre os diversos tipos de micro-organismos patogênicos que podem transmitir DTA's, destaca-se o *Staphylococcus aureus*, cuja importância na epidemiologia das doenças veiculadas por alimentos é decorrente de sua alta prevalência e do risco de produção de toxinas causadoras de gastroenterites alimentares (ZECCONI; HAHN, 2000).

Como relatado por HAIDA et al. (2007), as bactérias causadoras de agravos à saúde humana possuem resistência à grande parte dos antimicrobianos. Várias medidas são propostas para solucionar esse problema, sendo uma delas a busca de novos antimicrobianos a partir de espécies vegetais. Segundo DALL POZZO et al. (2011), óleos essenciais (OE's) representam um grupo de antimicrobianos naturais e são tradicionalmente usados nos alimentos para acentuar seu gosto ou aroma. Também constituem-se em complexas misturas de substâncias voláteis, geralmente lipofílicas, incluindo componentes como hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, ácidos orgânicos fixos, entre outros, em diferentes concentrações, nos quais, um composto farmacologicamente ativo é majoritário (SIMÕES; SPITZER, 1999).

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana dos OE's de tomilho (*Thymus vulgaris* L.), manjerona (*Origanum majorana* L.), noz moscada (*Myristica fragans* L.) e sálvia (*Salvia sclarea* L.) frente a isolados de *Staphylococcus aureus* e uma cepa de *S. aureus* ATCC 25923.

2. METODOLOGIA

A avaliação do perfil de sensibilidade aos OE's foi realizada com 18 isolados de *S. aureus*, já confirmados fenotípica e genotipicamente, e a cepa de *S. aureus* ATCC 25923. Inicialmente, os isolados e a cepa foram cultivados em caldo Brain Heart Infusion (BHI) durante 16-18 horas a 37°C, e a partir deste cultivo, foram preparados inóculos bacterianos com 0,5 de densidade óptica (DO600nm) ($1,5 \times 10^8$ UFC.mL⁻¹) utilizando um espectrofotômetro. Semou-se na superfície de placas contendo ágar Muller Hinton, 0,1 mL de cada cultivo. Posteriormente foram adicionados sobre a superfície das placas, discos de papel filtro estéreis (5mm de

diâmetro) e em seguida 5 μ L de cada um dos OE's foram adicionados sobre os filtros (CLSI, 2015). Foram testados 4 diferentes OE's comerciais, sendo eles tomilho (*Thymus vulgaris* L.), manjerona (*Origanum majorana* L.), noz moscada (*Myristica fragans* L.) e sálvia (*Salvia sclarea* L.).

O experimento foi realizado em triplicata para cada isolado. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas, sendo verificada após o período de incubação a formação ou não de halos de inibição ao redor do disco, indicando sua ação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo foi verificado que os 18 isolados e a cepa *S.aureus* ATCC 25923 demonstraram alguma sensibilidade a todos os OE's testados, como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1. Perfil de sensibilidade de óleos essenciais contra *Staphylococcus aureus* isolados de pescado salgado e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Micro-organismos	Halo de inibição (mm)			
	Tomilho	Manjerona	Sálvia	Noz Moscada
1	34	10	8	8
2	21	13	7	7
3	21	17	9	8
4	41	7	9	8
5	18	10	9	7
6	19	7	9	6
7	19	7	14	8
8	24	12	9	7
9	29	11	9	7
10	21	8	7	7
11	26	14	7	7
12	23	12	9	8
13	29	9	14	8
14	28	9	7	8
15	20	7	8	7
16	29	9	14	8
17	35	9	11	7
18	27	7	9	8
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	38	17	7	7

Segundo BARATTA et al. (1998) o óleo da manjerona se mostrou bastante ativo em relação a inibição de bactérias Gram-positivas, mostrando halos de inibição de 21mm sobre *S. aureus*, assim como no estudo relatado por SAĞDIÇ (2003), no qual mostrou halos de 22 mm sobre *S. aureus*, demonstrando-se ativo em relação à este patógeno. No presente estudo verificou-se que a manjerona frente aos isolados e a cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 obteve halo de inibição médio de

10mm, sendo assim, nossos resultados vão contra os apresentados nas pesquisas realizadas por BARATTA et al. (1998) e SAĞDIÇ (2003).

Do mesmo modo que a manjerona, o óleo essencial da sálvia não foi tão eficaz quando comparado com os demais óleos testados, pois apresentou halos de inibição médio de 9 mm, determinando-se como fraca atividade antimicrobiana frente a *S. aureus*. Nossos resultados não estão de acordo com o estudo realizado por GÜLÇİN et al. (2004), o qual mostra que os extratos de sálvia apresentaram forte atividade antibacteriana contra *S. aureus*.

Pode ser analisado que o óleo que demonstrou maior potencial de ação em nossa pesquisa foi o de tomilho, apresentando como média do halo de inibição, 26 mm, o que vai ao encontro dos resultados encontrados por ROTA et al. (2008), os quais verificaram que o óleo de *T. vulgaris* apresentou halo de inibição de 45mm . Neste mesmo estudo, foi possível verificar que o *T. vulgaris* e mais duas espécies de tomilho (*T. hyemalis* e *T. zygis*) foram capazes de inibir *S.aureus* com halos de inibição fortes e moderados. Têm-se estabelecido que 60% dos óleos essenciais tenham propriedades antifúngicas e 35% apresentam atividade antibacteriana (BHAVANANI; BALLOW, 1992). Alguns componentes destacam-se com mais efeitos que os demais, como, por exemplo, o timol encontrado no tomilho (40%) (BURT, 2004; KALEMBA et al. 2002) que tem um potencial antimicrobiano significativo frente à bactérias Gram positivas, Gram negativas e a fungos (SANTURIO et al. 2007; MAYAUD et al. 2008).

O timol é um monoterpenoide fenólico e um dos principais constituintes do óleo de tomilho. A ação antimicrobiana desse composto deverá causar danos estruturais e funcionais à membrana citoplasmática (SIKKEMA; DE BONT; POOLMAN, 1995). O modo primário de ação antibacteriana do timol não é totalmente conhecido, mas acredita-se que envolve a interrupção da membrana externa e interna e a interação com proteínas da membrana e alvos intracelulares (HYLDGAARD; MYGIND; MEYER, 2012).

4. CONCLUSÕES

A pesquisa realizada do perfil de sensibilidade dos OE's de *Thymus vulgaris* L., *Origanum majorana* L., *Myristica fragans* L. e *Salvia sclarea* L. demonstrou que o óleo de *Thymus vulgaris* L. apresentou um maior potencial de ação antimicrobiana que os demais óleos testados. Mais estudos são necessários para que esse óleo possa ser utilizado como agente antimicrobiano e uma alternativa como conservante natural a ser utilizado nos alimentos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARATTA, M.T.; DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. FIGUEIREDO, A.C.; BARROSO, J.G; RUBERTO, G.; Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils *Flavour Fragrance Journal*. v. 13, p. 235, 1998.

BHAVANANI, SM, BALLOW, CH. New agents for Gram-positive bacteria. *Current Opinion Microbiology*. v. 13, p. 528 – 534, 1992.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, v.94, n.3, p.223-253, 2004.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth** Informational Supplement. CLSI document M100-S25, 2015.

DAL POZZO, M.; VIÉGAS, J.; SANTURIO, D. F.; ROSSATTO, L.; SOARES, I. H.; ALVES, S.H.; COSTA, M. M. da. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a *Staphylococcus* spp isolados de mastite caprina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 4, p. 667-672, abr. 2011.

GÜLÇİN, I.; UĞUZ, M.T.; OKTAY, M.; BEYDEMİR, S.; KÜFREVİOĞLU, O.İ. Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Activities of Clary Sage (*Salvia sclarea* L.). **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 28, p. 25-33, 2004.

HAIDA, K. S., PARZIANELLO, L., WERNER, S., GARCIA, D. R., INÁCIO, C. V. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais. **Arquivos de Ciência da Saúde da Unipar**, Umuarama, v. 11, n. 3, p. 185-192, set./dez. 2007.

HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R. L. Essential Oils in Food Preservation: Mode of Action, Synergies, and Interactions with Food Matrix Components. **Frontiers in Microbiology**. v. 3, p. 12, 2012.

KALEMBA, D.; KUSEWICZ, D.; SWIADER, K.. Antimicrobial properties of the essential oil of *Artemisia asiatica* Nakai. **Phytotherapy Research**, v.16, n.3, p.288-291, 2002. Disponível em:<<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.856>>. Acesso em: 04 out. 2017.

MAYAUD, L.; CARRICAJO, A.; ZHIRI, A.; AUBERT, G. . Comparison of bacteriostatic and bactericidal activity of 13 essential oils against strains with varying sensitivity to antibiotics. **Letters in Applied Microbiology**, v.47, p.167-173, 2008. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1472-765X.2008.02406.x/abstract>>. Acesso em: 04 out. 2017.

ROTA, M.C; HERRERA, A.; Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils, **Food Control**. v.19, p. 681–687, 2008.

SANTÚRIO, J.M.; SANTÚRIO, D.F. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella entérica* de origem avícola. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n.3, p. 803-808, 2007.

SIKKEMA, J.; DE BONT, J. A. M.; POOLMAN, B Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. **Microbiological Reviews**. v. 59, p. 201–222, 1995.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2000. cap.18.

ZECCONI, A.; HAHN, G. *Staphylococcus aureus* in raw milk and human health risk. **Bulletin of International Dairy Federation** v.345, p.15-18, 2000.