

POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE ÓLEOS ESSENCIAIS FRENTE A BACTÉRIAS GRAM-POSITIVAS E GRAM-NEGATIVAS.

MATHEUS HENRIQUE VARGAS¹; KAMILA FURTADO DA CUNHA²; DANIELA RODRIGUERO WOZEAK²; PRISCILA KRÜGER VOIGT²; GLADIS AVER RIBEIRO³

¹Universidade Federal de Pelotas – matheushvargas@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – kamilafurtado1@hotmail.com;

²Universidade Federal de Pelotas – danielarwozeak@gmail.com;

²Universidade Federal de Pelotas – privoigt@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – gladisaver@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Doenças infecciosas são uma das maiores causas de mortalidade no mundo e um grave problema de saúde pública. Isso acontece devido às altas taxas de resistência dos micro-organismos, principalmente em ambientes hospitalares e justifica a importância da descoberta de novos medicamentos. São provocados por micro-organismos patogênicos que geralmente, invadem o organismo de um indivíduo, evitando a sua defesa e gerando danos aos tecidos. Infecções bacterianas podem ser causadas por diversos gêneros e espécies, sendo que os principais patógenos são encontrados em infecções comunitárias e nosocomiais (GUIMARÃES, et. al., 2017).

Dentre os agentes etiológicos causadores de infecções nosocomiais, destacamos o *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* spp. Dentre as possíveis causas que favorecem a incidência destas infecções pode ser citadas a susceptibilidade do paciente, os procedimentos terapêuticos utilizados e o padrão de assepsia e higiene. Além disso, a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, por exemplo, é resistente a produtos químicos, além de antibióticos (SOUZA, et. al., 2016). Também, patógenos como o *Staphylococcus epidermidis* podem causar infecções nosocomiais associadas a cateteres venosos centrais e outros dispositivos implantáveis (LAZZAROTTO, 2010).

Uma possível alternativa para contornar a resistência dos micro-organismos aos antibacterianos é a fitoterapia. Surgem então os óleos essenciais (OE), que são compostos naturais oriundos do metabolismo secundário vegetal e que apresentam propriedades biológicas comprovadas, com baixos valores de Concentração Inibitória Mínima (MIC) e ação tanto contra bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas (GUIMARÃES, et. al., 2017; RESENDE, et. al., 2016).

Com isso, o objetivo do trabalho foi verificar o potencial antibacteriano dos OE de cravo botão (*Eugenia caryophyllus* S.), funcho doce (*Foeniculum vulgare* M. var. *dulce*) e tangerina cravo (*Citrus reticulata* B.) frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

2. METODOLOGIA

Os isolados pertenciam a Bacterioteca do Laboratório de Bacteriologia, no Departamento de Microbiologia e Parasitologia, do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas e os óleos essenciais de *Eugenia caryophyllus*

S. (cravo botão), *Foeniculum vulgare* M. var. *dulce* (funcho doce) e *Citrus reticulata* B. (tangerina cravo) foram adquiridos comercialmente através da Ferquima®. A verificação da atividade biológica dos OE foi realizada segundo o NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*, 2015), com modificações, onde foram adicionados 10 µL dos OE sobre discos de papel filtro estéreis de 6 mm colocados sobre as placas de Ágar Muller Hinton já semeadas com o inóculo bacteriano ($1,5 \times 10^8$ UFC. mL⁻¹, equivalente a 0,5 na escala de McFarland). Como controle negativo, foram usados discos de papel filtro esterilizados contendo 10 µL de água destilada estéril e como controle positivo, discos do antibiótico Tetraciclina (30 µg). As placas foram incubadas durante 24h a 36°C e após este período, foi observada a presença ou não de halo ao redor dos discos embebidos com OE.

Para a determinação da MIC, foi utilizada a técnica de microdiluição em caldo (NCCLS, 2015) utilizando o Caldo Brain Heart Infusion (BHI), acrescido do emulsificante Tween 80 a uma concentração de 1%. Foram realizadas diluições do OE no meio variando de 25% a 0,019%. Como controle negativo foi utilizado meio de cultura sem adição de inóculo e o meio de cultura com a adição do inóculo foi usado como controle positivo do crescimento bacteriano. Para controle de esterilidade do OE, foi utilizado óleo essencial e meio de cultura. Os testes foram realizados em triplicata e incubados a 36°C por 24h e após a incubação foi adicionado 20 µL do reagente Cloreto de Trifenil Tetrazólio a 0,5% em todas as cavidades da placa a fim de verificar possível atividade antibacteriana.

Após a realização deste teste, foi determinada a Concentração Bactericida Mínima (CBM), sendo semeada uma alçada de todas as cavidades que apresentarem inibição do crescimento em placas contendo Ágar Muller Hinton. Após a incubação foi possível determinar quais concentrações do óleo essencial apresentaram atividade bactericida ou bacteriostática sobre o micro-organismo testado. (NCCLS, 2015).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos, os OE de cravo botão e de funcho doce apresentaram ação sobre *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, enquanto para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 não demonstraram nenhuma atividade biológica. Observou-se também que o OE de tangerina cravo não apresentou ação biológica sobre nenhuma das cepas avaliadas, corroborando com o trabalho de GERHARDT et. al. (2012). A tabela 1 abaixo mostra os resultados referentes a ação do OE de cravo botão, quanto ao MIC e a CBM.

Tabela 1. Concentração Bactericida e Inibitória Mínima do óleo essencial de *Eugenia Caryophyllus* S. (cravo botão) frente à bactérias gram-positivas e gram-negativas.

Isolados	CBM	MIC
<i>Staphylococcus epimermidis</i> ATCC 35984	0,78%	0,39%
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0,19%	X
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	0,19%	X
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0,39%	0,19%

CBM – Concentração Bactericida Mínima; CIM – Concentração Inibitória Mínima; X – Ausência de Concentração Inibitória ou Bactericida Mínima.

Os resultados apresentados demonstram que o OE de cravo botão apresentou atividade biológica em baixas concentrações, assim como os resultados apresentados por Abdullah et. al. (2015), que verificaram atividade antibacteriana em concentrações a partir de 0,625% e de 1,25% para *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Porém, PEREIRA et. al. (2014) constatou que este OE não apresentou atividade biológica contra *S. aureus*.

A atividade bacteriana do OE de cravo botão é dada por um dos seus componentes majoritários, o eugenol, que segundo RODELLA (2015), em determinadas concentrações degrada as proteínas da membrana celular das bactérias, levando a morte da bactéria. Além disso, o óleo apresenta atividade antimicrobiana tanto para bactérias Gram-positivas quanto negativas.

Tabela 2. Concentração Bactericida e Inibitória Mínima do óleo essencial de *Foeniculum vulgare* M. var. *dulce* (funcho doce) frente à bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Isolados	CBM	MIC
<i>Staphylococcus epimermidis</i> ATCC 35984	X	25%
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	25%	12,5%
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	25%	12,5%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	12,5%	6,125%

CBM – Concentração Bactericida Mínima; CIM – Concentração Inibitória Mínima; X – Ausência de Concentração Inibitória ou Bactericida Mínima.

Foi demonstrada na tabela 2 os resultados referentes a MIC e a CBM do OE de funcho doce. Embora este OE não tenha apresentado ação bactericida em apenas um isolado, concentrações maiores de OE foram necessárias para a inibição do crescimento microbiano na MIC em relação ao OE de cravo botão ao contrário do trabalho apresentado por PEREIRA et. al. (2014), onde este óleo essencial não apresentou atividade antimicrobiana frente aos isolados.

Segundo MARTIN (2011), o OE de funcho doce apresenta assim como o cravo botão um amplo espectro, engolando bactérias Gram-positivas e negativas, porém acredita-se que a sua ação atue principalmente em bactérias Gram-negativas, devido à presença da membrana externa, na qual ocorre a ruptura, além de também alterar a estrutura da membrana citoplasmática, interrompendo o fluxo de prótons, elétrons e transporte ativo.

4. CONCLUSÃO

Os resultados dos testes in vitro indicam que o OE de cravo botão apresentou um maior potencial inibidor e bactericida frente às bactérias testadas, quando comparado com o OE de funcho doce. Além disso, os resultados são importantes para o possível uso concomitante dos OE com antibióticos, o que seria uma alternativa nos dias atuais para o combate de infecções causadas pelos micro-organismos testados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULLAH, B.H.; HATEM, S.F.; JUMAA, W. A comparative study of the antibacterial activity of clove and rosemary essential oils on multidrug resistant

bacteria. **UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences**, London, v. 3, n.1, p. 18-22, 2015.

GERHARDT, C.; WIEST, J. M.; GIROLETTO, G.; SILVA, M. A. S.; WESCHENFELDER, S. Aproveitamento da casca de citros na perspectiva de alimentos: prospecção da atividade antibacteriana. **Brazilian Journal of Food Technology**. p. 11-17, 2012.

GUIMARÃES, C.C.; FERREIRA, T.C.; OLIVEIRA, R.C.F.; SIMIONI, P.U.; UGRINOVICH, L.A. Atividade antimicrobiana in vitro do extrato aquoso e do óleo essencial do Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Biociências**. Porto Alegre, v. 15, n. 2, p. 83-89, 2017.

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. Approved standard M7-A10, 2015.

LAZZAROTTO, C. **Formação de biofilme de *Staphylococcus epidermidis* isolado de cateter venoso central através de métodos fenotípicos e genotípicos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Programa de Pós-Graduação em Medicina – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.

MARTIN, J.G.P. **Atividade antimicrobiana de produtos naturais: erva-mate e resíduos agroindustriais**. 2011. Dissertação (Mestre em Ciências – Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

PEREIRA, A.A.; PICCOLI, R.H.; BATISTA, N.N.; CAMARGOS, N.G.; OLIVEIRA, M.M.M. Inativação termoquímica de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella enterica* Enteritidis por óleos essenciais. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 44, n. 11, p. 2022-2028, 2014.

RESENDE, D.B.; MARTINS, H.H.A.; CARVALHO, D.T., PICCOLI, R.H.; SCHWAN, R.F.; DIAS, D.R. Síntese e avaliação antibacteriana de glicosídeos acetilados e desacetilados de eugenol, diidroeuugenol e isoeugenol frente a bactérias contaminantes de alimentos. **CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA AGROPECUÁRIA, AGRÍCOLA E AMBIENTAL**, 1., Jaboticabal, 2016, Universidade Estadual de São Paulo, Ciência & Tecnologia: FATEC-JB, v. 8, Número Especial.

RODELLA, F.M. **Extração e atividade antibacteriana do óleo essencial de cravo-da-índia**. 2015. 80f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) - Fundação Educacional do Município de Assis - FEMA – Assis.

SOUZA, G.H.B.; MIRANDA, R.R., INÁCIO, L.J., AM PARO, T.R.; VAZ, L.B.A.; FERNANDES, M.A.S.; MAPA, B.C.; TEIXEIRA, L.F.M.; ASSENÇÃO, R.A.G.; LANNA, M.C.S.; SILVA, A.J.S.; CAMPOS, M.M.C; RIOS, E.M.P.F. *Pseudomonas aeruginosa* em hospital da microrregião de Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil. **Infarma – Ciências Farmacêuticas**, Brasília, v. 28, e. 4, p. 234-240, 2016.