

AÇÃO ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO FRENTE A *Vibrio parahaemolyticus*

AMANDA BARBOSA ATRIB¹; DÉBORA RODRIGUES SILVEIRA²; GREYCE
SILVEIRA MELLO³; CLÁUDIO DIAS TIMM⁴

¹Universidade Federal de Pelotas – amanda_b_atrib@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – debora.rsilveira@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – greycemello@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – claudiotimm@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

O peixe desempenha um papel importante na nutrição humana, fornecendo pelo menos 20% da ingestão de proteína para um terço da população mundial. Seu consumo é maior nos países em desenvolvimento. É um alimento rico em minerais, incluindo o iodo, selênio, zinco, magnésio e cálcio (MOHANTY et al., 2013).

Os pescados são produtos alimentares altamente perecíveis e suscetíveis à deterioração química e microbiológica durante o processamento ou armazenamento (HASSOUN e ÇOBAN, 2017). O alto consumo de pescados crus e mal-cozidos tornou-se uma das causas mais comuns de gastroenterite transmitida por alimentos. *Vibrio* spp. está entre os principais causadores de surtos associados a pescados. O Brasil tem clima tropical, que o torna um país propício para a ocorrência e proliferação de *Vibrio* spp. (CALLIARI, 1998). *Vibrio parahaemolyticus* é a espécie mais prevalente quanto à causa de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) entre as 30 espécies de *Vibrio* conhecidas (WU et al., 2018).

A Lagoa dos Patos, localizada no extremo sul do Brasil, possui uma interação estuário-oceano, a qual é influenciada por fatores meteorológicos que acabam refletindo na sua salinidade podendo favorecer a multiplicação de bactérias halofílicas, dentre elas *V. parahaemolyticus*, que já foi encontrado em pescados capturados nesta lagoa (ROSA, 2016; MILAN et al., 2015).

Há vários métodos que se podem utilizar para preservar a qualidade e reduzir a contaminação dos alimentos, o mais utilizado pela indústria é a adição de conservantes químicos. Contudo, vem crescendo a preocupação com a segurança na adição de conservantes químicos e sintéticos para a saúde, sendo maior a procura por uso de compostos naturais (HASSOUN e ÇOBAN, 2017). Os óleos essenciais de condimentos vêm sendo testados como uma opção para substituir os conservantes sintéticos, devido à sua atividade antioxidante e aos seus efeitos antimicrobianos (JAYASENA e JO, 2013).

A ação antimicrobiana do óleo essencial de orégano tem sido demonstrada frente a diversos microrganismos patogênicos (MELLO et al., 2017; SANTOS et al., 2011; Santurio et al., 2007). Entretanto, embora MELLO et al. (2018) tenha testado o seu uso em pescados visando ao controle da contaminação por *Vibrio* spp., os estudos sobre a ação do óleo essencial de orégano frente a *Vibrio parahaemolyticus* são ainda muito raros.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* do óleo essencial de orégano frente à *Vibrio parahaemolyticus*.

2. METODOLOGIA

A atividade antimicrobiana do óleo essencial foi testada frente a *V. parahaemolyticus*. As cepas utilizadas foram ATCC 8001 e duas cepas selvagens previamente isoladas de *Micropogonias funieri* (cepa V42) e de *Farfantepenaeus paulensis* (cepa V58) capturados no estuário da Lagoa dos Patos (ROSA et al., 2016).

Os isolados, mantidos a -20°C em Água Peptonada Alcalina (APA, Himedia, Mumbai, Índia) com 1% de cloreto de sódio (APA 1% NaCl) e 20% de glicerol, foram recuperados em APA 1% NaCl durante 24 h a 37°C.

O método de disco-difusão foi realizado conforme Clinical and Laboratory Standards Institute (2012), com pequenas modificações para adaptar a técnica para *Vibrio*. Uma alíquota de 0,1 mL de cultura *overnight* em APA 1% NaCl de *V. parahaemolyticus* com aproximadamente 10^8 células/mL foi semeada, com auxílio de alça de Drigalsky, em placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton (Kasvi, Itália) com 1% de NaCl. Discos de papel filtro estéreis impregnados com o óleo essencial (5 µL por disco com 6 mm de diâmetro) foram depositados sobre o meio inoculado e as placas foram incubadas a 37°C por 24 h. O diâmetro da zona de inibição, incluindo o diâmetro do disco, foi medido em milímetros e a atividade inibitória foi classificada em forte, diâmetro > 15 mm, moderada, 10 a 15 mm de zona de inibição ou sem ação inibitória, quando < 10 mm, segundo estipulado por CAROVIC-STANKO et al. (2010).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise de disco-difusão, o óleo essencial de orégano apresentou efeito inibitório sobre os crescimentos bacterianos. A cepa ATCC 8001 apresentou halo de inibição de 28 mm, V42 de 28 mm e V58 de 23 mm. O óleo testado apresentou halos de inibição que, de acordo com CAROVIC-STANKO et al. (2010), são considerados como de forte atividade antimicrobiana.

Em estudo realizado por YANO et al. (2006), foi testada a ação do óleo de orégano sobre cepas de *V. parahaemolyticus* e o efeito inibitório foi verificado a partir da concentração de 0,5%. Em outro trabalho, MELLO et al. (2018) testaram a ação do óleo de essencial de orégano frente a *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* em filés de *M. platanus*, e observaram que, após a imersão dos filés em solução com concentração de 1% de óleo essencial de orégano, não houve efeito bactericida. O efeito bactericida ocorreu apenas quando os filés foram marinados em solução de 1,5%. Essas diferenças na concentração efetiva de óleo essencial de orégano podem ser devidas a variações na sua composição química, já que a parte da planta, os procedimentos de cultivo, fatores ambientais e o grau de desenvolvimento podem causar mudanças na sua composição. Possivelmente características dos alimentos também possam influenciar a ação do óleo. Portanto, novos estudos ainda se fazem necessários para que concentrações eficazes de óleo essencial de orégano possam ser seguramente recomendadas para o controle de *V. parahaemolyticus* em alimentos.

No nosso estudo, observamos forte inibição dos microrganismos testados com o óleo essencial, entretanto experimentos com o seu uso em alimentos ainda deverão ser realizados, de forma a verificar o efeito antimicrobiano neste ambiente e a aceitação pelos consumidores dos alimentos com a concentração efetiva do óleo essencial de orégano.

4. CONCLUSÕES

O óleo essencial de orégano é capaz de inibir o crescimento de *Vibrio parahaemolyticus*, sendo considerado um forte inibitor. Ainda são necessários mais estudos para se avaliar a quantidade mínima necessária para inibir o crescimento e ser utilizado em indústrias como conservante de alimentos com segurança.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONA, T. D. M. M.; PICKERL, L.; MIGLINO, L. B.; KURITZA, L. N.; VASCONCELOS, S. P.; SANTIN, E. Óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato de pimenta no controle de *Salmonella*, *Eimeria* e *Clostridium* em frangos de corte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 5, p. 411-418, 2012.

CALLIARI, L. J. **O ambiente e a biota do Estuário da Lagoa dos Patos**. In: SEELIGER, U.; ODEBRECHT, C.; CASTELLO, J. P. Os ecossistemas costeiro e marinho do extremo sul do Brasil. Rio Grande: Ecoscientia, p.13-18, 1998.

CAROVIC-STANKO, K.; ORLIC, S.; POLITEO, O.; STRIKIC, F; KOLAK, I.; MILOS, M.; SATOVIC, Z. Composition and antibacterial activities of essential oils of seven *Ocimum* taxa. **Food Chemistry**, v. 119, p. 196-201, 2010.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **M02-A11 performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**. Wayne, Pennsylvania, USA, 2012. 950 p.

GURDIAN, C.; CHOULJENKO, A.; SOLVAL, K. M.; BOENEKE, C.; KING, J. M.; SATHIVEL, S. Application of Edible Films Containing Oregano (*Origanum vulgare*) Essential Oil on Queso Blanco Cheese Prepared with Flaxseed (*Linum usitatissimum*) Oil. **Journal of Food Science**, v.82, n.6, 2017.

HASSOUN, A.; ÇOBAN, O. E. Essential oils for antimicrobial and antioxidant applications in fish and other seafood products. **Trends in Food Science & Technology**, v.68, p.26-36; 2017.

JAYASENA, D. D.; JO, C. Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v.34, p.96–108; 2013.

MELLO, G. S.; VIVIAN, P. G.; PORTO, R. C.; GRANDA, E. A.; TIMM, C. D. APLICAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Origanum vulgare* EM FILÉS DE *Mugil platanus* COMO FORMA DE CONTROLE DE *Vibrio parahaemolyticus* E *Vibrio vulnificus* Enpos – xix encontro de pós graduação, 2017.

MILAN, C.; SILVEIRA, D. R.; ROSA, J. V.; TIMM, C. D. *Vibrio parahaemolyticus* isolados de pescados do estuário da Lagoa dos Patos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.74, n.2, p.151-5, 2015.

MOHANTY, B. P.; MAHANTY, A.; GANGULY, S.; MITRA, T.; KARUNAKARAN, D.; ANANDA, R. Nutritional composition of food fishes and their importance in

providing food and nutritional security. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.61, p.10835–10847, 2013.

ROSA, J. V.; SILVA, C. J.; BARBOSA, F.; BAIRROS, J.; DUVAL, E. H.; HELBIG, E.; TIMM, C. D. *Vibrio parahaemolyticus* and *Salmonella enterica* isolates in fish species captured from the Lagoa dos Patos estuary. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 3, p. 1345-1354, 2016.

SANTOS, J. C.; FILHO, C. D. C.; BARROS, T. F.; GUIMARÃES, A. G. In vitro antimicrobial activity of essential oils from oregano, garlic, clove and lemon against pathogenic bacteria isolated from *Anomalocardia brasiliiana*. **Ciências Agrárias, Londrina**, v.32, n.4, p.1557-1564, 2011.

SANTURIO J. M.; SANTURIO, D. F.; MORAES, P. P. C.; FRANCHIN, P. R.; ALVEZ, S. H. Antimicrobial activity of essential oils from oregano, thyme and cinnamon against *Salmonella enterica* sorovars from avian source. **Ciência Rural**, v.37, n.3, mai-jun, 2007.

WU, W.; ZHOU, M.; ELE, H.; LIU, C.; LI, P.; WANG, H.; LIU, Y.; HAO, X., FANG, Z. A sensitive aptasensor for the detection of *Vibrio parahaemolyticus*. **Sensors & Actuators: B. Chemical**, v. 272, p. 550–558, 2018.

YANO, Y; SATOMI, M.; OIKAWA, H. Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. **International Journal of Food Microbiology**, v.111, p.6-11, 2006.