

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL *CYPERUS SCARIOSUS*

**RAFAELY PICCIONI ROSADO¹; ANDRESSA DE OLIVEIRA BLANKE²; JANICE
LUEHRING GIONGO²; MATHEUS PEREIRA DE ALBUQUERQUE²; THOBIAS
TONIOLI DE SOUZA²; RODRIGO DE ALMEIDA VAUCHER³**

¹*Laboratório de Pesquisa em Bioquímica e Biologia Molecular de Micro-organismos
(LaPeBBioM) - Universidade Federal de Pelotas – rafaelypiccioni@hotmail.com*

²*Laboratório de Pesquisa em Bioquímica e Biologia Molecular de Micro-organismos
(LaPeBBioM) - Universidade Federal de Pelotas – andressa-blanke@hotmail.com*

²*Laboratório de Pesquisa em Bioquímica e Biologia Molecular de Micro-organismos
(LaPeBBioM) - Universidade Federal de Pelotas - janicegiongo@hotmail.com*

²*Laboratório de Pesquisa em Bioquímica e Biologia Molecular de Micro-organismos
(LaPeBBioM) - Universidade Federal de Pelotas – matheusalbuquerque813@gmail.com*

²*Laboratório de Pesquisa em Bioquímica e Biologia Molecular de Micro-organismos
(LaPeBBioM) - Universidade Federal de Pelotas – thobias.toniolo@gmail.com*

³*Laboratório de Pesquisa em Bioquímica e Biologia Molecular de Micro-organismos
(LaPeBBioM)- Universidade Federal de Pelotas – rodvaucher@hotmail.com*

1. INTRODUÇÃO

A resistência antimicrobiana é classificada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma das dez principais ameaças à saúde global (BRASIL, 2020). Os antimicrobianos são fármacos com a finalidade de impedir ou inibir o crescimento de patógenos e destruí-los (FURTADO et al., 2019). Entretanto, um dos problemas mundiais é o uso inadequado e excessivo desses medicamentos que são considerados de importância clínica nos setores agrícola, veterinário e médico. Eles estão diretamente relacionados com o aumento da resistência dos agentes infecciosos através de diversos mecanismos, o que contribui no aumento da mortalidade, morbidade, prolongamento no tempo de internação e elevação nos custos do tratamento (FRIERI et al., 2017).

Visto a crescente problemática de resistência microbiana, busca-se cada vez mais métodos alternativos para combater as infecções causadas por fungos e bactérias resistentes aos tratamentos convencionais, como *Candida albicans* que tem o potencial de adquirir resistência ao fluconazol e a *Klebsiella pneumoniae* resistentes a carbapenêmicos (CRKP), o que é considerado preocupante devido à eficácia limitada de outras opções de tratamentos disponíveis (LU et al., 2021; PEREIRA et al., 2021; WANG et al., 2020).

Nesse contexto, os óleos essenciais, que são metabólitos secundários das plantas, destacam-se por apresentarem diferentes efeitos terapêuticos, como efeito antimicrobiano, capaz de inibir o crescimento e a proliferação de microrganismos multiresistentes afetando a estrutura da parede celular das bactérias e também podem alterar a permeabilidade da membrana plasmática e interromper processos celulares (OUSSALAH et al., 2007; BONA et al., 2012). São considerados eficazes, com baixa toxicidade, o que ocasionaria menos reações adversas para o paciente e seria mais vantajoso pelo baixo custo (CONTRUCCI et al., 2019).

O *Cyperus scariosus* é uma planta pertencente à família Cyperacene, o gênero *Cyperus spp.* é conhecido por conter muitos compostos bioativos, como α-ciperona, α-corimbolol, α-pineno, óxido de cariofileno, ciperotundona, germacreno D, mustakone e zierone, que conferem propriedades farmacológicas ao seu extrato (KASANA et al., 2013; TAHERI et al, 2012). No entanto, existem poucos estudos que avaliem a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *C. scariosus*, e o que tem descrito na literatura é sobre outras espécies de microrganismos. Sendo assim, o objetivo do presente estudo é avaliar a atividade antimicrobiana desse óleo obtido das raízes dessa planta, nas espécies de *Klebsiella pneumoniae* e *Candida albicans*.

2. METODOLOGIA

O óleo essencial de *Cyperus scariosus* foi adquirido comercialmente da empresa Ferquima situada no centro, da Vargem Grande Paulista- SP, 06730-000. O método de extração realizado pela empresa foi através da destilação a vapor das raízes.

Para a avaliação da atividade antimicrobiana dos microrganismos foi utilizado o método de Disco-Difusão proposto por Kirby e Bauer (1966) conforme preconizado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) protocolo M2-A11 (2012). Para a técnica de disco difusão foram preparadas suspensões das bactérias (*Klebsiella pneumoniae* e *Candida albicans*), disponíveis no Laboratório de Pesquisa em Bioquímica e Biologia Molecular de Microorganismos, localizado no Campus Capão do Leão da UFPel, prédio 15. O preparo do inóculo foi realizado em solução de NaCl 0,9% com turbidez de 0,5 na escala Mcfarland (equivalente a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ Unidades Formadoras de Colônias/mL). Com o auxílio de swabs estéreis as suspensões bacterianas foram semeadas na superfície das placas de Petri contendo cerca de 25mL do meio Ágar Mueller Hinton, com uma espessura de aproximadamente 4 mm. Posteriormente foram adicionados os discos de papel-filtro esterilizados contendo 10 µL do óleo essencial de *Cyperus scariosus* na superfície das placas em contato com o inóculo do microrganismo. A placa de *K.pneumoniae* foi incubada por 24h e a placa de *C. albicans* foi por 48h à 37°C na estufa e após esse período foi realizada a análise da formação dos halos.

Para a Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi utilizado o protocolo do CLSI M07-A9 (2012) através da técnica de microdiluição em placa de 96 poços. Para a realização desse teste foi utilizado o meio de cultura caldo Mueller Hinton, onde em cada poço foi adicionado 100µL do meio, após foi acrescentado no primeiro poço 100µL do óleo essencial de *Cyperus scariosus* e após foi feito uma diluição seriada poço a poço desprezando os últimos 100µL. Em seguida foi adicionado nos poços 10µL do inóculo da bactéria. No controle negativo foi adicionado apenas 100µL de meio de cultura e no controle positivo foi adicionado 100µL de meio e 10µL do inóculo da bactéria. Estas placas foram incubadas por 24h e 48h a 37°C na estufa. Após esse período foi realizado a leitura acrescentando 50µL de cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio, que é um composto que têm a capacidade de ficar com coloração vermelha quando existe a presença de microrganismos vivos, podendo assim visualizar até qual concentração ocorreu a inibição do crescimento do microrganismo.

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos compostos majoritários fornecidos pela Ferquima, no óleo essencial de *Cyperus scariosus* foram encontrados cyperene em 24% e α-copaene em 5%.

Em termos de atividade antimicrobiana, podemos constatar a suscetibilidade antimicrobiana do óleo essencial de *Cyperus scariosus* conforme pode ser observado na tabela 1.

Tabela 1. Atividade antimicrobiana do OERC frente à patógenos.

PATÓGENOS	OECS			
	Halo (mm)	2X CIM	CIM	½ CIM
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14	242825 µg/ml	121412,5 µg/ml	60706,25 µg/ml
<i>Candida albicans</i> ATCC 14053	10	121412,5 µg/ml	60706,25 µg/ml	30353,12 µg/ml

Os resultados obtidos demonstraram a formação de um halo de inibição na *Klebsiella pneumoniae* de 14 mm e para espécie de *Candida albicans* ATCC 14053 de 10 mm.

Quando analisada a CIM observou-se que as menores concentrações inibitórias foram de 60706,25 µg/ml para *Candida albicans* ATCC 14053 e para *Klebsiella pneumoniae* de 121412,5 µg/ml.

Diante dos problemas abordados sobre resistência antimicrobiana, observou-se a necessidade da inserção de novas alternativas terapêuticas, devido a insuficiência e escassez global de novos antibióticos.

3. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos nesse trabalho conclui-se que o óleo essencial de *Cyperus scariosus* demonstra um bom potencial antimicrobiano frente as cepas escolhidas, pode ser considerado como uma possível alternativa terapêutica, com amplo espectro de ação. Portanto, mais estudos são necessários para avaliar outras atividades, citotoxicidade e atividade antimicrobiana deste óleo contra diferentes cepas de microrganismos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONA, T. D. M. M. et al. Óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato de pimenta no controle de *Salmonella*, *Eimeria* e *Clostridium* em frangos de corte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 32, n.5, p. 411-418, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Pandemia pode aumentar o risco de resistência microbiana.** 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2020/pandemia-pode-aumentar-o-risco-de-resistencia-microbiana#:~:text=De%20acordo%20com%20a%20OMS>>.

Clinical And Laboratory Standards International, 2012. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; Approved standard-Ninth edition M07-A9. CLSI, Wayne, PA, USA.

Clinical And Laboratory Standards International, 2012. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Approved standard-Eleventh edition informational supplement M02-A11. Wayne, PA: CLSI.

CONTRUCCI, B. A. et al. Efeito de Óleos Essenciais Sobre Bactérias Gram-Negativas Isoladas de Alimentos. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 23, n. 3, p. 180–184, 18 dez. 2019.

FRIERI, M.; KUMAR, K.; BOUTIN, A. *Antibiotic resistance*. **Journal of Infection and Public Health**, v. 10, n. 4, p. 369–378, jul. 2017.

FURTADO, Diego Moreno Fernandes; SILVEIRA, Vinicius Sousa da; FURTADO, Moreno Fernandes; KILISHEK, Monica Pereira. Consumo de antimicrobianos e o impacto na resistência bacteriana em um hospital público do estado do Pará, Brasil, de 2012 a 2016. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 10, 2019.

KASANA, Bhawna; SHARMA, Satish Kumar; SINGH, Lalit; MOHAPATRA, Sharmistha; SINGH, Tanuja. CYPERUS SCARIOsus: a potential medicinal herb. **International Research Journal Of Pharmacy**, [S.L.], v. 4, n. 6, p. 17-20, 5 jul. 2013.

LU, Hui et al. *Candida albicans* targets that potentially synergize with fluconazole. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 47, n. 3, p. 323-337, 2021.

OUSSALAH, M. et al. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v. 18, n. 5, p. 414-420, 2007.

PEREIRA, R. et al. Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance. **Journal of Applied Microbiology**, v. 131, n. 1, p. 11-22, 2021.

TAHERI, Yasaman; HERRERA-BRAVO, Jesús; HUALA, Luis; SALAZAR, Luis A.; SHARIFI-RAD, Javad; AKRAM, Muhammad; SHAHZAD, Khuram; MELGARLALANNE, Guiomar; BAGHALPOUR, Navid; TAMIMI, Katayoun. *Cyperus* spp.: a review on phytochemical composition, biological activity, and health-promoting effects. **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, [S.L.], v. 2021, p. 1-17, 7 set. 2021.

WANG, Guoying; ZHAO, Guo; CHAO, Xiaoyu; XIE, Longxiang; WANG, Hongju. The characteristic of virulence, biofilm and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae*. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 17, p. 6278, 2020.