IV Congresso Nacional de Microbiologia Clínica On-line

CONTROLE ANTIMICROBIANO DE ÓLEOS ESSENCIAIS FRENTE A *ESCHERICHIA COLI*: AVALIAÇÃO *IN VITRO*

ANDRESSA ANA ANSILIERO, DAIANE TENCZNA; ISABELA MACHADO CANALLI

RESUMO

As bactérias são parte fundamental na vida terrestre, encontrando-se em diversos ambientes e desempenhando papéis benéficos para seus hospedeiros. É importante destacar que, em determinadas condições, o equilíbrio da microbiota pode ser perturbado, levando a desafios de saúde. Por exemplo, o uso indiscriminado de antibióticos pode afetar tanto as bactérias patogênicas quanto as benéficas, resultando em desequilíbrios e condições favoráveis ao desenvolvimento de infecções. No entanto, a resistência aos antibióticos é uma inevitabilidade resultante da adaptação das células bacterianas à exposição a essas substâncias, sendo a utilização intensiva de antibióticos uma contribuição significativa para o aumento global dessa resistência. Dessa forma tem-se buscado métodos alternativos como a utilização de óleos essenciais com efeito antimicrobiano para auxiliar no controle de infecções bacterianas. Os óleos essenciais de plantas medicinais demonstram eficácia no tratamento de doenças infecciosas, exercendo atividade antimicrobiana, inclusive contra microrganismos resistentes a antibióticos e antifúngicos. Este estudo objetivou avaliar a ação antimicrobiana dos óleos essenciais de bergamota (*Citrus bergamia*), canela (*Cinnamomum cassia*), cravo (*Eugenia caryophyllus*), laranja (*Citrus sinensis*), limão siciliano (*Citrus limon*) e melaleuca (*Melaleuca alternifólia*) frente a cepa de *Escherichia coli.* O experimento foi conduzido no laboratório de microbiologia da Universidade Alto Vale do Rio do Peixe utilizando a metodologia de antibiograma por disco-difusão. Foram inseridos assepticamente 20 µL dos óleos em discos estéreis de papel filtro, inoculados o microrganismo e incubado por 24 horas. Passado o tempo foram feitas as leituras e medições. Os óleos que obtiveram maior halo de inibição foram os de canela e limão com 47,9 mm e 38,9mm respectivamente, já o óleo de bergamota apresentou o menor halo de inibição com 9,3 mm.

Palavras-chave: Antibiograma**;** canela (*Cinnamomum cassia*); limão siciliano (*Citrus limon*).

1 INTRODUÇÃO

As bactérias constituem uma parte integral e inseparável da vida na Terra. Encontram-se em todos os lugares, revestindo a pele, as mucosas e cobrindo o trato intestinal de seres humanos e animais, estão intrinsecamente ligadas às vidas dos organismos e aos vastos ambientes nos quais residem. Algumas são benéficas para seu hospedeiro e provêm nutrientes ou proteção contra patógenos e doenças, limitando a habilidade de colonização de bactérias nocivas (Santos, 2004).

A primeira descrição da bactéria *Escherichia coli* ocorreu em 1885, pelo pediatra e bacteriologista alemão Theodore Escherich (Wasteson, 2012). A *E. coli* está associada a cerca de metade das infecções hospitalares, afetando de 70 a 90% dos casos de infecções do trato urinário (ITU) em grupos vulneráveis, como crianças, idosos e gestantes. Essa bactéria contribui significativamente para a morbidade, acarretando elevados custos financeiros tanto no tratamento de pacientes quanto nos sistemas de saúde, sejam eles públicos ou privados

DOI: 10.51161/conamic2024/31411

(Palou *et al.,* 2011).

A resistência aos antibióticos é uma inevitabilidade e irreversibilidade, sendo uma consequência natural da adaptação das células bacterianas à exposição a essas substâncias. O uso intensivo de antibióticos na medicina, na produção de alimentos para animais e na agricultura tem contribuído para um aumento global na resistência a esses medicamentos. O uso indiscriminado dos antibióticos, para o controle das infecções, carreia com eles o risco de selecionar organismos resistentes, muitos dos quais não serão mais controlados, se causarem futuras infecções (Santos, 2004)

Os elementos fundamentais presentes em plantas medicinais ou óleos essenciais demonstram eficácia no tratamento terapêutico de doenças infecciosas. Essas substâncias, em sua maioria, atuam como agentes antimicrobianos, exercendo atividade contra uma ampla variedade de microrganismos, inclusive aqueles resistentes a antibióticos e antifúngicos (Pereira *et al.* 2008).

Várias são as atividades farmacológicas conhecidas de alguns óleos essenciais, seja na medicina popular ou em pesquisas científicas. Dentre estas, cita-se: ação carminativa, antiespasmódica, estimulante sobre secreções do aparelho digestivo, cardiovascular, irritante tópica ou revulsiva, secretolítica, sobre o sistema nervoso central (SNC), analgésica local, anti-inflamatória, antimicrobiana (inibindo crescimento de bactérias e fungos), inseticida, entre outras. Óleos essenciais são produtos voláteis presentes em vários órgãos vegetais (partes aéreas, cascas, troncos, raízes, frutos, flores, sementes e resinas) e estão relacionados ao metabolismo secundário das plantas exercendo diversas funções importantes à sobrevivência vegetal, como por exemplo na defesa contra microrganismos (Lima *et al.,* 2006).

A eficácia antibacteriana está condicionada ao tipo, composição e concentração da espécie ou do óleo essencial, à composição do substrato, aos processos de manipulação, às condições de armazenamento e ao tipo específico do microrganismo envolvido (Bertini *et al*., 2005).

Os desafios na pesquisa sobre o uso de óleos essenciais para entender e comprovar sua eficácia incluem explorar conhecimentos da medicina tradicional e popular, isolar e caracterizar princípios ativos, conduzir investigações farmacológicas de extratos e componentes químicos isolados, além de estudar a relação estrutura/atividade e os mecanismos de ação desses princípios ativos. A integração dessas diversas áreas na pesquisa abre caminho para a descoberta de novos compostos biologicamente ativos (Maciel *et al*., 2002).

Dessa forma o presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação antimicrobiana dos óleos essenciais de bergamota (*Citrus bergamia*), canela (*Cinnamomum cassia*), cravo (*Eugenia caryophyllus*), laranja (*Citrus sinensis*), limão siciliano (*Citrus limon*) e melaleuca (*Melaleuca alternifólia*) frente a cepa de *Escherichia coli.*

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no laboratório de Microbiologia da Universidade Alto Vale do Rio do Peixe, Caçador – SC. Para padronização no controle de qualidade os óleos essenciais foram adquiridos comercialmente da marca Harmonie.

Foi utilizado o microrganismo de referência a cepas de *E. coli* New Prov Lote 62786 em salina estéril, padronizada a suspensão bacteriana até atingir uma turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala MacFarland, que corresponde aproximadamente a $1{,}5.10^8$ Unidades Formadoras de Colônias por mL (UFC/mL). Para os testes antibacterianos, utilizou-se o método de difusão, conforme descrito pela NCCLS. Foram inseridos 20 µL de óleo essencial em cada disco estéril de papel filtro. Então foram inoculadas assepticamente e uniformemente, com o auxílio de swab, as cepas em placas com Ágar Muller-Hinton (AMH), sendo inoculados quatro discos por placa. Para controle positivo das técnicas, foi utilizado discos de antibiótico de amoxicilina + clavulanato e para controle negativo água destilada. As placas serão incubadas a

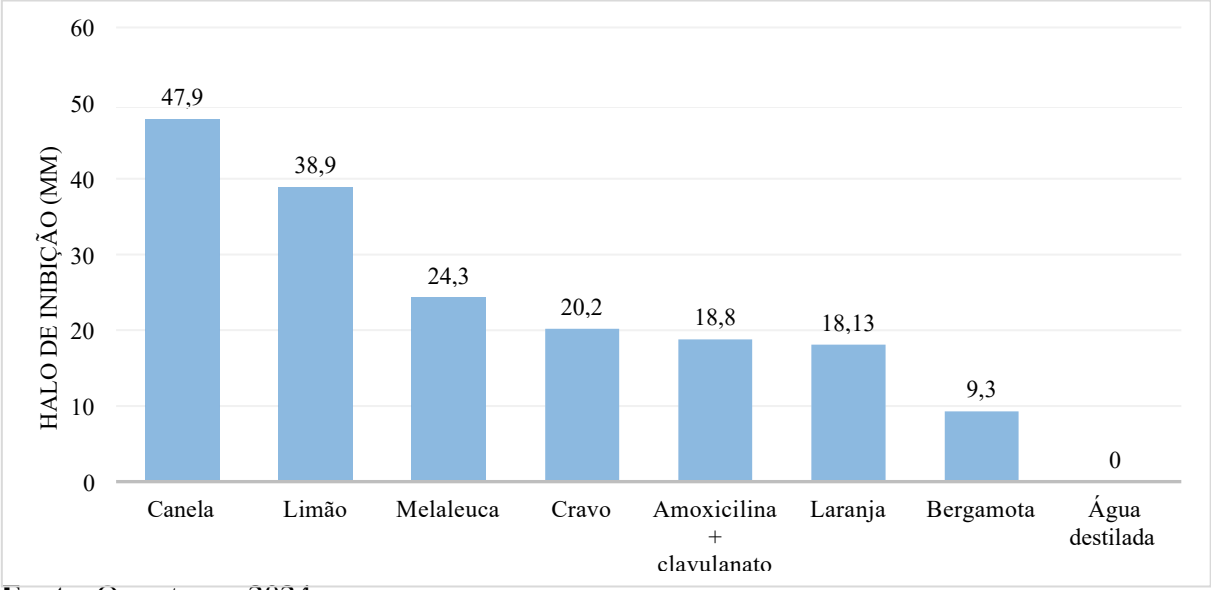
DOI: 10.51161/conamic2024/31411

37°C por 24 horas. Após incubação foram realizadas as interpretações dos halos de inibição de crescimento ao redor do disco, medidos em milímetros (mm).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias encontradas estão ilustradas no Gráfico 1 abaixo. Observou-se que o óleo essencial de canela apresentou maior inibição quando comparados com os demais. Dos óleos testados o de bergamota foi que demonstrou o menor halo de inibição.

Gráfico 1 - Média de inibição do halo bacteriano para *E. coli* para diferentes óleos essenciais



Fonte: Os autores, 2024.

Silva *et al*. (2009) identificaram que quanto a *E. coli*, os óleos de cravo-da-índia, capim cidreira e canela foram capazes de zerar a contagem ao final de 24 horas de experimentação, caracterizando assim o efeito também bactericida destes óleos. Segundo Beraldo *et al.* (2013) os óleos essenciais de canela e cravo-da-índia mostraram-se mais eficientes que o hipoclorito de sódio, na inibição de *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*, *E. coli* e *Salmonella sp*., utilizando-se o método de micro diluição, sendo ainda possível aplicar os óleos essenciais como princípios ativos de sanitizantes, em função de menores concentrações necessárias para a inibição microbiana.

Já Contieri (2017) relatou que óleo de bergamota não mostrou ação antimicrobiana frente a cepas de *Staphylococcus sp*. o que corrobora com o resultado encontrado nesse trabalho tendo em vista que a utilização do óleo de bergamota foi a menor média dos halos de inibição com média de 9,3 mm.

Para Galgano *et al*. (2022) o óleo essencial de *Citrus limon* demonstrou baixa atividade antimicrobiana contra cepa*s de E. coli*, mas o crescimento bacteriano foi inibido, assim como para Usach *et al*. (2020) onde o óleo inibiu o crescimento de *E. coli*, *S. aureus* e *Candida albicans.* tendo o mesmo efeito antimicrobiano como o presente estudo.

De Camargo e Cruz (2018) evidenciaram que óleo essencial de melaleuca promoveram a formação de halos de inibição nas amostras testadas frente à *E. coli*, mesmo120 dias após o preparo das formulações cosméticas.

Quando analisados estatisticamente, os dados estão representados na Tabela 1.

DOI: 10.51161/conamic2024/31411

Tabela 1 - Médias do halo de inibição em milímetros ± desvio padrão

Óleo essencial	Média do halo de inibição mm
Canela	47,9 a ±4,3
Limão	38,9 a ±7,0
Melaleuca	24,3 b ±7,3
Cravo	20,2 bc ±1,2
Controle positivo – Amoxicilina + clavulanato	18,8 bc ±0,2
Laranja	18,13 bc ±0,8
Bergamota	9,3 cd ±0,9
Controle negativo – água destilada	0,0 d ±0,0

Fonte: Os autores, 2024.

Os óleos de canela e limão sobressaíram-se em relação as demais mas não diferiram entre si. Já os óleos de melaleuca, cravo, laranja e bergamota não tiveram diferença estatística entre si, dessa forma faz-se necessário mais testes a fim de comprovar a CIM (Concentração Inibitória Mínima) para que se possa usar o óleo essencial que melhor se enquadrar dentro das possibilidades da utilização.

4 CONCLUSÃO

Com isso, o presente estudo sobre o uso de óleos essenciais em cepas de *E. coli* demonstrou promissores resultados ao evidenciar halos de inibição maiores que o controle positivo de Amoxicilina + Clavulanato. Essa descoberta sugere que os óleos essenciais podem representar uma alternativa mais viável no combate à infecções bacterianas, destacando-se pelo potencial de preservação da eficácia aos antibióticos tradicionais, diminuindo o risco do organismo criar uma resistência aos mesmos.

Sendo os óleos de canela e limão com a maior inibição, observamos resultados promissores onde sugerem que esses compostos possuem potencial antimicrobiano. Sendo assim, a presente evidenciação abre portas para futuros estudos, onde a aplicação dos óleos poderá ser explorada como uma alternativa no combate à infecções bacterianas.

REFERÊNCIAS

BERALDO, Carolina *et al*. Eficiência de óleos essenciais de canela e cravo-da-índia como sanitizantes na indústria de alimentos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, p. 436-440, 2013.

BERTINI, L.M. *et al*. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. **Revista Infarma**, v.17, n.314, p.80-3, 2005.

CONTIERI, Natália Bertini. **Avaliação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais frente a isolados de Staphylococcus spp. e Pasteurella spp. oriundas da cavidade bucal de gatos domésticos**. 2017. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

DE CAMARGO MATOS, Janara; CRUZ, Nina Rosa Santos. Atividade antimicrobiana do óleo de melaleuca alternifolia comparada a conservantes químicos usados em bases cosméticas. **Revista Remecs-Revista Multidisciplinar de Estudos Científicos em Saúde**, v. 3, n. 4, p. 21-30, 2018.

GALGANO, Michela *et al*. Antimicrobial activity of essential oils evaluated in vitro against Escherichia coli and Staphylococcus aureus. **Antibiotics**, v. 11, n. 7, p. 979, 2022.

DOI: 10.51161/conamic2024/31411

LIMA, I.O. *et al*. Atividade antifúngica e óleos essenciais sobre espécies de Candida. Revista **Brasileira Farmacognosia**, v.16, n.2, p.197-201, 2006.

MACIEL, Maria Aparecida M. *et al.* Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química nova**, v. 25, p. 429-438, 2002.

NCCLS- The National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard— Eighth Edition. NCCLS document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

PALOU, J. *et al*. Etiología y sensibilidad de los uropatógenos identificados en infecciones urinarias bajas no complicadas de la mujer (Estudio ARESC): implicaciones en la terapia empírica. **Medicina Clínica**, Vol.136, p.1-7, 2011.

PEREIRA, Alcilene de Abreu *et al.* Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de Staphylococcus aureus e Escherichia coli. **Ciência e Agrotecnologia,** v. 32, p. 887-893, 2008.

SANTOS, Neusa de Queiroz. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto & Contexto-Enfermagem**, v. 13, p. 64-70, 2004.

SILVA, M. T. N. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas frente a linhagens de Staphylococcus aureus e Escherichia coli isoladas de casos clínicos humanos. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 11, p. 257-262, 2009.

SIMOES C.M.O. *et al*. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. Porto Alegre. Ed da Universidade UFRGS. 2001

USACH, Iris *et al*. Comparison between citral and pompia essential oil loaded in phospholipid vesicles for the treatment of skin and mucosal infections. **Nanomaterials**, v. 10, n. 2, p. 286, 2020.

WASTESON Y. Zoonotic *Escherichia coli*. 2001. Disponível em http://www.biomed central.com/content/pdf/1751-0147-43-S1- S79.pdf. Acesso em 30 de janeiro de 2024.

DOI: 10.51161/conamic2024/31411