

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *OCIMUM BASILICUM*, *OCIMUM GRATISSIMUM* E *SALVIA OFFICINALIS*.

Nara Leticia Belan dos Santos (PIC/UEM), Karen de Mello Silva, Tania Ueda Nakamura, Gislaïne Franco de Moura Costa (Orientador), e-mail: gfmcosta@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde/Maringá, PR.

Ciências Biológicas, Microbiologia.

Palavras-chave: atividade antimicrobiana, óleos essenciais,

Resumo: A utilização de óleos essenciais e extratos de plantas tem se mostrado eficiente no controle do crescimento de uma variedade de microrganismos e vários estudos têm sido realizados na comprovação da efetividade dos mesmos. Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais *Ocimum basilicum* (Manjeirão), *Ocimum gratissimum* (Alfavaca-cravo) e *Salvia officinalis* (Sálvia). Os óleos foram testados nas concentrações de 4000; 2000; 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 ul/ml em placa de 96 poços contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis*. Observamos que o *Ocimum gratissimum* obteve os melhores resultados em ambos os testes em comparação aos outros óleos em estudo. O óleo *Ocimum gratissimum* inibiu a *Candida albicans* na concentração 1000 µg/mL e a *Candida tropicalis* em 4000 µg/mL, sendo fungicida para ambos nestas mesmas concentrações. Inibiu também, mesmo que fracamente o *Staphylococcus aureus* em 4000 µg/mL. Os óleos *Ocimum basilicum* e *Salvia officinalis* não apresentaram ação antimicrobiana nas concentrações estudadas.

Introdução

Óleos essenciais são substâncias naturais geradas pelo metabolismo secundário das plantas. São compostos voláteis, de aromas característicos e composição variável (SIMÕES e SPITZER, 2001). Além de apresentarem características fungistáticas ou bacteriostáticas (DUARTE, 2006).

O *Ocimum gratissimum*, vulgarmente conhecido como alfavaca, é uma fonte importante de óleo essencial. Este que é rico em eugenol, o qual confere a ação antisséptica contra alguns fungos e bactérias (PEREIRA, 2011).

Já o *Ocimum basilicum*, L., é também fonte de óleos essenciais, estes apresentam em sua composição substâncias como timol, estragol, metilchavicol, linalol, eugenol, cineol e pireno (PEREIRA, 2011).

A *Salvia officinalis* L. também foi reconhecida pela atividade antimicrobiana a qual é atribuída à composição do seu óleo essencial, que geralmente apresenta 1,8-cineol, tuyoona e cânfora (DELAMARE, 2007).

As propriedades antimicrobianas de substâncias presentes em extratos e óleos essenciais são de conhecimento popular há séculos, entretanto a comprovação científica das mesmas é recente. Portanto, pesquisa por antimicrobianos de origem natural se torna importante devido à resistência que os microrganismos apresentam aos antimicrobianos conhecidos (DUARTE, 2006). Sendo assim este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais *Ocimum basilicum* (Manjeiricão), *Ocimum gratissimum* (Alfavaca-cravo) e *Salvia officinalis* (Sálvia).

Materiais e métodos

Obtenção dos óleos essenciais

Os óleos essenciais foram adquiridos comercialmente da Ferquima Indústria e Comércio LTDA, Vargem Grande Paulista-SP.

Ensaio de atividade antibacteriana e antifúngica

Micro-organismos

As cepas de bactéria e fungos que foram utilizadas para avaliação da MIC são: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6623, *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida parapsilosis* ATCC 22019 e *Candida tropicalis* ATCC 28707.

Padronização da suspensão microbiana

As bactérias foram semeadas em Caldo Müller-Hinton (CMH) e incubadas durante 18 a 24h, enquanto as leveduras foram semeadas em Caldo Sabouraud Dextrose por 48 a 72 h. Após o crescimento a suspensão microbiana foi diluída em solução salina estéril (0,85% NaCl) até atingir a turbidez equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland, correspondendo a uma concentração de aproximadamente 1 a 2×10^8 UFC/mL para bactéria e 1 a 5×10^6 UFC/mL para *Candida* spp

Concentração inibitória mínima (CIM) – Microdiluição em caldo de acordo com M07-A9 (2012) e M27-A3 (2008) CLSI

Foi preparada uma solução estoque dos óleos essenciais utilizando-se o meio de cultura adequado para cada microrganismo (para bactérias Caldo Müller Hinton e para fungos o meio RPMI-1640 com 0,05% de vermelho de fenol e suplementado com 10% glicose). A partir da solução estoque, obteve-se uma solução de uso de 8 mg/ml. 100 µL de meio foi adicionado em cada poço de uma placa de 96 poços. Em seguida, 100 µL

da solução teste foram adicionados aos poços da primeira coluna sendo realizada uma diluição seriada resultando nas seguintes concentrações: 4000; 2000; 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 $\mu\text{g/mL}$. Também foram realizados controle do meio, controle do óleo essencial e controle do inóculo.

Em seguida foi adicionada a suspensão padronizada de bactérias ou leveduras e incubados a 37 ± 2 °C durante 18 a 24h (bactérias) ou 48 a 72h (leveduras). O CIM (menor concentração capaz de inibir o crescimento do microrganismo) foi determinado pela ausência de turvação do meio.

Concentração bactericida (CBM)/ fungicida mínima (CFM)

Para avaliar a capacidade bactericida mínima (CBM) e fungicida mínima (CFM), semeou-se em meios específicos (ágar Müller-Hinton a 37 ± 2 °C por 24h para bactéria, ou ágar Sabouraud dextrose a 35 ± 2 °C por 48h para leveduras) uma porção do meio de cultura dos poços onde o CIM foi determinado e também das concentrações superiores. A menor concentração do extrato na qual não houve crescimento de microrganismos ou o crescimento de apenas uma colônia foi considerada como CBM e CFM.

Resultados e Discussão

Tabela 1. Atividade antifúngica dos óleos essenciais

	<i>C. albicans</i>		<i>C. tropicalis</i>		<i>C. parapsilosis</i>	
	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	CFM ($\mu\text{g/mL}$)	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	CFM ($\mu\text{g/mL}$)	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	CFM ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Ocimum basilicum</i>	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000
<i>Ocimum gratissimum</i>	1000	1000	4000	4000	>4000	>4000
<i>Salvia officinalis</i>	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000

Tabela 2. Atividade antibacteriana dos óleos essenciais

	<i>E. coli</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>S. aureus</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	CBM ($\mu\text{g/mL}$)	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	CBM ($\mu\text{g/mL}$)	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	CBM ($\mu\text{g/mL}$)	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	CBM ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Ocimum basilicum</i>	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000
<i>Ocimum gratissimum</i>	>4000	>4000	>4000	>4000	4000	>4000	>4000	>4000
<i>Salvia officinalis</i>	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000

De acordo com Aligiannis et al (2001) são considerados inibidores fortes, os óleos que apresentarem a CIM até $500\mu\text{g/mL}$, com CIM entre $600\mu\text{g/mL}$ e $1.500\mu\text{g/mL}$ são considerados moderados e com CIM acima de $1.600\mu\text{g/mL}$ são considerados fracos. Dessa forma, observou-se que nenhum óleo apresentou-se como inibidor forte. O óleo essencial *Ocimum gratissimum* foi o que apresentou melhor capacidade inibitória frente às leveduras em

estudo, considerando-o um inibidor moderado para *Candida albicans* e fraco para *Candida tropicalis* e *Staphylococcus aureus*.

Salvia officinalis e *Ocimum basilicum* não apresentaram atividade contra nenhum dos microrganismos testados nas concentrações estudadas.

Conclusões

Diante dos resultados, é possível concluir que o óleo essencial de *Ocimum gratissimum* demonstrou uma melhor atividade antimicrobiana, se apresentando como um inibidor moderado sobre *Candida albicans*, e como um fraco inibidor sobre *Candida tropicalis*, sendo também o único a apresentar atividade antibacteriana, mesmo que fraca, sobre *Staphylococcus aureus*.

Ocimum basilicum e *Salvia officinalis* não apresentaram potencial inibitório frente aos microrganismos testados.

Referências

ALIGIANNIS, N. et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 49, n. 9, p. 4168-4170, 2001.

DELAMARE, Ana Paula Longaray et al. Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. **Food chemistry**, v. 100, n. 2, p. 603-608, 2007.

DUARTE, Marta Cristina Teixeira. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Revista MultiCiência**, v. 7, n. 1, 2006.

PEREIRA, R.; MOREIRA, A. L. M. Manjerição: cultivo e utiliza o. **Embrapa Agroindústria Tropical-Documentos (INFOTECA-E)**, 2011.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V.  leos voláteis. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2001. Cap.18.