AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA AÇÃO ANTIBACTERIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS COMERCIAIS FRENTE A AÇÃO DE MICRORGANISMOS DE INTERESSE CLÍNICO E ALIMENTAR

Maria Antonia Vendramini da Silva (PIC/UEM), Larissa Lobo Zamboti, Jean Lopes da Silva, Isabelly Vitoria Da Silva Gonçalves, Emily Brito Ferreira (Coorientadora), Fabrícia Gimenes (Orientadora). E-mail: fgimenes@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências da Saúde / Microbiologia

Palavras-chave: Óleos essenciais, Atividade antibacteriana, concentração inibitória mínima

RESUMO

Os óleos essenciais (OEs) destacam-se pelo reconhecido potencial antimicrobiano, despertando crescente interesse como alternativas naturais para o controle de bactérias de relevância clínica e alimentar. O objetivo deste estudo foi avaliar, como resultados parciais, a atividade antibacteriana de OEs comerciais de laranja (*Citrus sinensis*), limão (*Citrus limon*), gengibre (*Zingiber officinale*) e cravo (*Syzygium aromaticum*) frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella oxytoca*. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada por microdiluição em caldo utilizando placas de 96 poços, com leitura espectrofotométrica ≈620 nm. A Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi determinada por subcultivo dos poços sem crescimento em Ágar Mueller-Hinton, em triplicata. Os resultados mostram que entre os OEs avaliados, o de laranja apresentou maior atividade inibitória frente a *K. oxytoca* e *S. aureus* com CIM de 1000 µg/mL. O OE de cravo, na mesma concentração, apresentou efeito bactericida sobre *K. oxytoca* e expressiva redução do crescimento de *S. aureus*, embora sem eliminação completa das células. Por sua vez, o OE de limão apresentou atividade inibitória predominantemente contra *E. coli* e *P. aeruginosa*. Em conjunto, os achados parciais evidenciam que a atividade antibacteriana dos OEs varia conforme o produto e o microrganismo, reforçando a necessidade de continuidade dos ensaios para confirmação e caracterização de seus efeitos.

INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais (OEs) são misturas complexas de compostos voláteis produzidos por plantas aromáticas, constituídas principalmente por terpenoides e fenilpropanoides. Esses metabólitos secundários apresentam diversas propriedades

antioxidantes, antifúngicas e antimicrobianas, o que tem despertado interesse para aplicações nas áreas da saúde e alimentar. A atividade antimicrobiana dos OEs está relacionada principalmente à ação de seus constituintes sobre a membrana citoplasmática, alterando sua integridade e permeabilidade e comprometendo a viabilidade bacteriana (Beyaz *et al.*, 2025).

Em paralelo, a resistência aos antimicrobianos constitui um dos principais desafios para o controle de infecções no ambiente hospitalar, uma vez que bactérias resistentes podem limitar as opções terapêuticas e favorecer a persistência de infecções. Entretanto, esse fenômeno não se restringe ao ambiente hospitalar, apresentando também impactos na cadeia de alimentos, onde bactérias resistentes podem ser disseminadas por alimentos, água e superfícies, constituindo uma preocupação para a saúde pública e a segurança de alimentos (Samtiya *et al.*, 2022).

Diante disso, o presente estudo avaliou *in vitro* o potencial antibacteriano de OEs frente a diferentes espécies de relevância clínica e alimentar, por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM).

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram avaliados OEs comerciais de laranja (*Citrus sinensis*), limão (*Citrus limon*), gengibre (*Zingiber officinale*) e cravo (*Syzygium aromaticum*), armazenados a 8 °C e protegidos da luz. Foram utilizadas cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella oxytoca* ATCC 13182, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, provenientes do Laboratório de Microbiologia de Água, Ambiente e Alimentos da Universidade Estadual de Maringá. As cepas foram reativadas em Caldo Mueller-Hinton (MHB) e cultivadas em Ágar Mueller-Hinton (MHA), sendo os inóculos padronizados pela escala de McFarland 0,5 (≈1,5 × 10^8 UFC/mL).

A CIM foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, conforme o protocolo do *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2018). Foram realizadas diluições seriadas dos OEs em placas de 96 poços, a partir de 1000 µg/mL, utilizando MHB com Tween 80 a 1% (v/v) como emulsificante. Cada condição recebeu o inóculo bacteriano padronizado, com controles de crescimento e esterilidade. Após incubação a 35 ± 2 °C por 24 h, o crescimento foi avaliado por espectrofotometría a 620 nm, sendo a CIM definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano.

Para determinação da CBM, as alíquotas dos poços sem crescimento foram subcultivadas em MHA e incubadas a 35 °C por 24 h. A CBM correspondeu à menor concentração sem crescimento no subcultivo. Quando houve crescimento, determinou-se a redução logarítmica por contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL). Os ensaios foram realizados em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram diferentes perfis de atividade antibacteriana dos OEs contra as espécies bacterianas avaliadas (Figuras 1, A-D), evidenciando que a atividade antimicrobiana variou de acordo com o OE e o microrganismo.

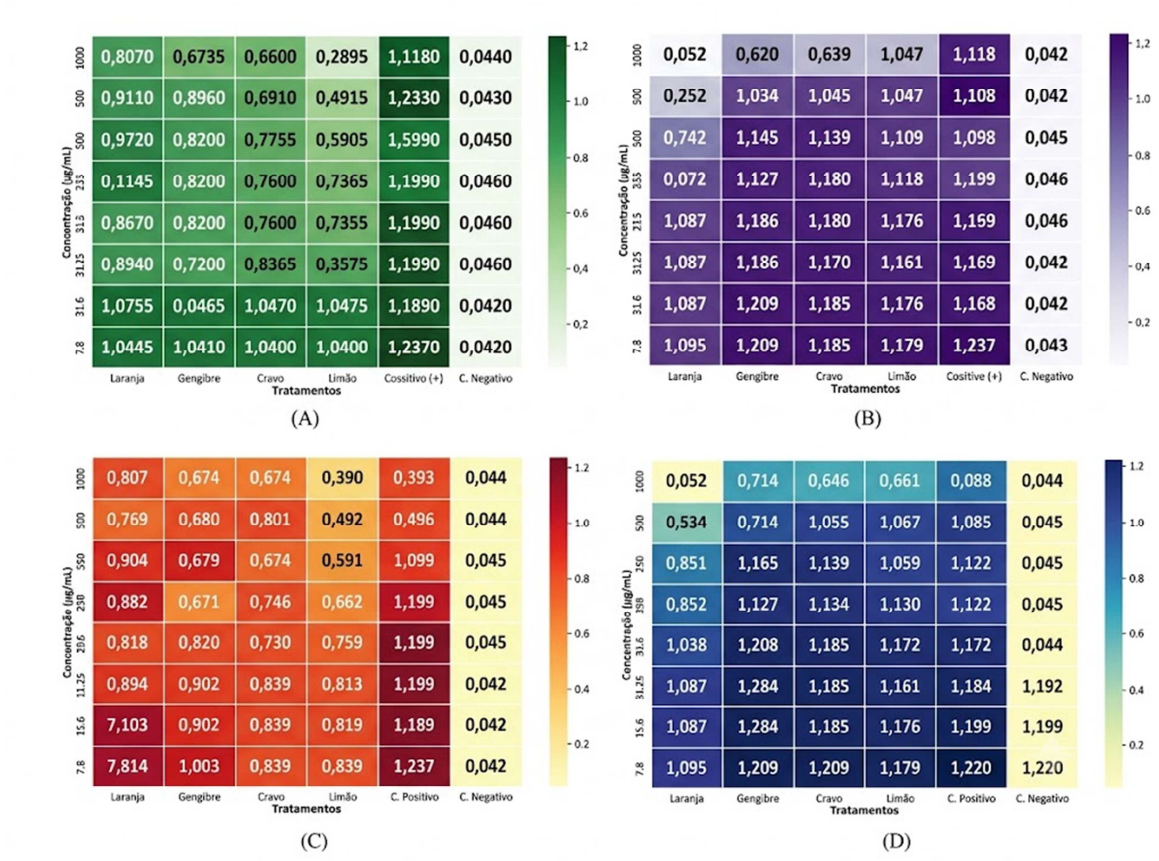


Figura 1 – Mapas de calor dos valores de absorbância (~620 nm) obtidos na avaliação da atividade antibacteriana dos óleos essenciais frente a *P. aeruginosa* (A), *K. oxytoca* (B), *E. coli* (C) e *S. aureus* (D).

Para *P. aeruginosa* (Figura 1A), o óleo essencial (OE) de limão apresentou a maior atividade inibitória, especialmente a 1000 µg/mL, e redução parcial do crescimento em 500 µg/mL (absorbâncias de 0,2895 e 0,4915, respectivamente). Os demais OEs apresentaram menor atividade inibitória, possivelmente devido à menor suscetibilidade das bactérias Gram-negativas, cuja membrana externa pode dificultar a ação de compostos hidrofóbicos presentes nos OEs (Angane *et al.*, 2022).

Em *K. oxytoca* (Figura 1B), o OE de laranja destacou-se, apresentando a menor absorbância na concentração de 1000 µg/mL, valor próximo do controle de esterilidade (0,044), além de efeito inibitório observado a 500 µg/mL (0,389). O OE

de cravo apresentou efeito bactericida na concentração de 1000 µg/mL, evidenciado pela ausência de crescimento no subcultivo.

Para *E. coli* (Figura 1C), apenas o OE de limão apresentou atividade inibitória nas condições avaliadas, com absorbâncias de 0,290 e 0,492 nas concentrações de 1000 e 500 µg/mL, respectivamente. Sua atividade pode estar relacionada à ação de seus constituintes bioativos, embora sua composição química não tenha sido determinada. Os demais OEs não apresentaram inibição relevante nas condições testadas.

Em *S. aureus* (Figura 1D), o OE de laranja apresentou elevada atividade inibitória na concentração de 1000 µg/mL, com absorbância de 0,052, próxima ao controle de esterilidade (0,044), e redução do crescimento também foi observada a 500 µg/mL (0,534). O OE de cravo também apresentou efeito expressivo na CBM de *S. aureus*, com redução quantitativa (UFC/mL), porém sem eliminação completa da população bacteriana.

De modo geral, os resultados parciais demonstraram que os OEs de laranja e cravo apresentaram maior atividade frente a *K. oxytoca* e *S. aureus*, enquanto o OE de limão se destacou contra *E. coli* e *P. aeruginosa*. A maior suscetibilidade de *S. aureus* pode estar relacionada à ausência de membrana externa nas Gram-positivas, embora as diferenças entre espécies indiquem que outros fatores também influenciam essa resposta.

CONCLUSÕES

Os resultados indicam que a atividade antibacteriana dos OEs comerciais varia conforme o produto e a espécie bacteriana, reforçando a necessidade de continuidade dos ensaios para confirmação e caracterização de seus efeitos.

AGRADECIMENTOS

À UEM pela oportunidade de realização deste projeto de Iniciação Científica e ao LAGUA-UEM pelo suporte técnico e infraestrutura disponibilizada, fundamentais para a execução dos ensaios experimentais.

REFERÊNCIAS

ANGANE, M.; SWIFT, S.; BUTTS, C. A. Essential oils and their major components: an updated review on antimicrobial activities, mechanism of action and their potential application in the food industry. ***Foods*****,** v. 11, n. 3, p. 464, 2022. DOI: 10.3390/foods11030464.

BEYAZ, M. O.; YETIMAN, A. E.; DOĞAN, M.; HORZUM, M. Examining the possibility of producing natural microbicides and antioxidant agents for food and cosmetic uses from the essential oils of *Laurus nobilis* (laurel), *Syzygium aromaticum* (clove), and *Cinnamomum verum* (cinnamon). **Food Bioscience**, v. 69, p. 106840, 2025. DOI: 10.1016/j.fbio.2025.106840.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **M07: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard**. 11. ed. Wayne, PA: CLSI, 2018.

SAMTIYA, M.; MATTHEWS, K. R.; DHEWA, T.; PUNIYA, A. K. Antimicrobial resistance in the food chain: trends, mechanisms, pathways, and possible regulation strategies. ***Foods***, v. 11, n. 19, p. 2966, 2022. DOI: 10.3390/foods11192966.