

Óleo Essencial de Alho (*Allium sativum*) como Antimicrobiano Frente a Cepas ATCC de *Escherichia coli* (25922) e *Staphylococcus Aureus* (25923).

Isadora N. Oliveira, Gustavo O. Everton, Anna Clara C. Ferreira, Iure B. de Sousa, Adenilde N. Mouchrek, Amanda M. Teles & Victor E. M. Filho

Óleo essencial de alho (*Allium sativum*) como cepas ATCC frente antimicrobiana *Escherichia coli* (25922) e *Staphylococcus aureus* (25923). Por milhares de anos, o *Allium sativum* e seus extratos foram usados para tratar infecções. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana através da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do óleo essencial de alho (*Allium sativum*) frente às cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Foram obtidos para *Escherichia coli* o CIM de 25 µg/mL e 100 µg/mL de *Staphylococcus aureus*. A partir dos resultados obtidos neste estudo pode-se concluir que o óleo apresentou uma atividade bactericida eficaz contra as cepas padrão de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Resultados semelhantes foram observados na literatura.

Palavras Chave: *Óleo; Alho; Antimicrobiana.*

Essential oil of garlic (*Allium sativum*) as ATCC strains front antimicrobial *Escherichia coli* (25922) and *Staphylococcus aureus* (25923). For thousands of years the *Allium sativum* and its extracts have been used to treat infections. Thus, this study aimed to evaluate antimicrobial activity by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) of the essential oil of garlic (*Allium sativum*) front of the strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. It was obtained for *Escherichia coli* the CIM of 25 µg/mL and 100 µg/mL *Staphylococcus aureus*. From the results obtained in this study it can be concluded that the oil presented an effective bactericidal activity against the standard strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Similar results were observed in the literature.

Keywords: *Oil; Garlic; antimicrobial.*

Introdução

Há milhares de anos o *Allium sativum* e seus extratos têm sido usados para tratar infecções. A maior concentração de fitoquímicos terapêuticos encontra-se nos bulbilhos. Centenas de fitoquímicos bioativos foram identificados sendo os de maior destaque os compostos sulfurados, presentes em quantidades três vezes maiores do que em outros vegetais como a cebola e o brócolis¹.

Allium sativum é uma planta herbácea, caracterizada por um bulbo (cabeça) dividido em dentes (*bulbilhos*). É um alimento funcional rico em alicina que possui ação antiviral, antifúngica e antibiótica, tem também, considerável teor de selênio agindo como antioxidante. Alguns compostos sulfurados presentes no alho possuem atividade hipotensora, hipoglicemiante, hipocolesterolêmica e antiagregante plaquetária, reduzindo o risco de doenças cardiovasculares. As demais substâncias encontradas no alho possuem atividade imunestimulatória e antineoplásica².

No Brasil, o uso de plantas medicinais passa de geração à geração, baseando-se na prática indígena, influenciada pelas culturas africana e portuguesa. Desde a implantação do Sistema Único de Saúde (SUS), na década de 1980, o governo estimula o uso dos recursos naturais para a promoção da saúde através de tecnologias eficazes, visando a integração do ser humano com o meio ambiente e a sociedade³.

Dessa forma, este estudo teve por objetivo avaliar a atividade antimicrobiana por determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do óleo essencial de alho frente a cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

Metodologia

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Físico-Química e Laboratório de Microbiologia do Programa de Controle de Qualidade de Alimentos e Água do Pavilhão Tecnológico da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

Os dentes de alho foram coletados no município de São

Luis-MA, Brasil, em março de 2017 e transportadas para o Laboratório de Físico-Química de Alimentos do Pavilhão Tecnológico da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), onde foram secas em temperatura ambiente, trituradas (em pó) e armazenadas para extração do óleo essencial.

Para extração do óleo essencial dos dentes de *Allium sativum* (alho), utilizou-se um extrator de Clevenger, de vidro acoplado a um balão de fundo redondo de 1000 mL acondicionado em manta elétrica como fonte geradora de calor. A cada rotina de extração do óleo essencial foram pesadas 100g das folhas e adicionou-se água destilada na proporção de 1:10 e colocadas em um balão de fundo redondo acoplado ao sistema extrator. A hidrodestilação foi conduzida a 100°C por 5h recolhendo-se o óleo essencial extraído. O óleo foi seco por meio de percloração com Na₂SO₄. Essas operações foram realizadas em triplicatas e as amostras armazenadas em ampolas de vidro âmbar sob refrigeração de 4°C para evitar possíveis perdas de constituintes voláteis. Posteriormente submetido as análises.

MICRO-ORGANISMOS TESTADOS

Foram utilizadas duas cepas de bactérias provenientes da “*American Type Culture Collection*” (ATCC) doadas pelo Laboratório de Microbiologia do Controle de Qualidade de Alimentos e Água da Universidade Federal do Maranhão (PCQA-UFMA), sendo uma Gram-negativas: *Escherichia coli* (ATCC 25922) e uma Gram-positiva: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). A identificação das cepas foi confirmada pelo uso de ensaios bioquímicos, seguindo as recomendações do manual de microbiologia clínica⁴.

PADRONIZAÇÃO DO INOCULO

Culturas microbianas puras mantidas em ágar TSA foram repicadas para caldo de infusão de cérebro e coração (BHI) e incubadas a 35°C até atingirem fase exponencial de crescimento (4-6h). Após esse período, as culturas tiveram sua densidade celular ajustada em solução salina 0,85% estéril, de modo a se obter uma turbidez comparável à da solução padrão de McFarland 0,5, o que resulta em

uma suspensão microbiana contendo aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL de acordo com as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute⁵.

CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA

Para determinação da concentração inibitória mínima (CIM), utilizou-se a técnica de diluição em caldo. Preparou-se uma solução, utilizando-se DMSO 2%, na concentração de 1000 µg/mL do óleo essencial de *Allium sativum*. Em seguida foram realizadas diluições seriadas em caldo Mueller Hinton (MH), resultando nas concentrações de 1000, 500, 250, 200, 100, 50 e 25 mL. A suspensão microbiana, realizada previamente de acordo com as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute⁵, contendo $1,5 \times 10^8$ UFC/mL das cepas foram adicionadas a cada concentração. Realizou-se o controle constituído apenas da solução de DMSO nas mesmas concentrações testadas. Foram reservados tubos para controle de esterilidade do caldo e de crescimento bacteriano. Logo após os tubos foram incubados a 35°C por 24 horas.

Logo após os tubos foram incubados a 35°C por 24 horas. Após o período de incubação, foi verificada a concentração inibitória mínima do óleo, sendo definida como a menor concentração que visivelmente inibiu o crescimento bacteriano (ausência de turvação visível). Ensaios realizados em triplicata.

Resultados e Discussão

Através dos resultados obtidos, observou-se que o óleo essencial de alho possui atividade antimicrobiana frente à *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Pela determinação da concentração inibitória mínima (CIM), foi obtida para *Escherichia coli* a CIM de 25 µg/mL e para *Staphylococcus aureus* 100 µg/mL, conforme a Tabela 1.

Dormans e Deans⁶, após utilizarem óleos essenciais de orégano, gerânio, cravo e pimenta, frente a 25 espécies Gram-positivas e negativas e observaram que bactérias Gram-positivas eram mais suscetíveis que as Gram-negativas.

Resultados semelhantes foram encontrados por Indu et. al.⁷ que ao analisarem a atividade antimicrobiana do óleo essencial de alho relataram que o mesmo apresentou atividade antibacteriana excelente em todas as concentrações testadas (100, 75%, 50% e 25) a diferentes cepas de *Escherichia coli*.

Tabela 1. Concentrações µg/mL testadas do óleo essencial frente aos micro-organismos.

Bactéria ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL)	Concentração (µg/mL)						
	500	250	200	100	50	25	5
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+

Nota: (-) Ausência de turvação visível / Impedimento do crescimento microbiano / (+) Turvação visível / Crescimento microbiano

Observou-se também que a atividade mais eficiente do óleo essencial se mostrou frente à *Escherichia coli*, em uma diferença de CIM 100 µg/mL maior para *Staphylococcus aureus*.

Para Nascimento et al.⁸, os métodos de atividade antimicrobiana (diluição e difusão) não são necessariamente comparáveis. Isto por que o método de diluição mostra ser o que melhor disponibiliza dados quantitativos, enquanto a difusão em placa constitui-se um método qualitativo.

Conclusões

A partir dos resultados obtidos neste estudo pode-se concluir que o óleo essencial extraído dos dentes de alho apresentou uma eficiente atividade bactericida frente às cepas padrão de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Obtiveram-se resultados semelhantes ao da literatura.

Agradecimentos

AO PCQA e à UFMA

Referências Bibliográficas

1. Cutler, R.R.; Wilson, P. Antibacterial activity of a new, stable, aqueous extract of allicin against methicillinresistant *Staphylococcus aureus*. *British journal of biomedical Science*, v. 61, n.2, p.71-4, **2004**.
2. Corzo-Martínez, M. et al. Biological properties of onions and garlic. *Trends in Food Science & Technology*, v.18, n.12, p.609-25, **2007**
3. Almeida, M. Z. Plantas medicinais. 3. ed. Salvador: EDUFBA, **2011**.
4. Murray, P. R. *Microbiologia Clínica*. Guanabara Koogan, **2003**. 2v.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard. M2-A8, 8.ed. **2003**.
6. Dorman, H.; Deans, S. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Applied Microbiology*, Reino Unido, v. 88, n. 2, p. 308- 16, feb. **2000**.
7. Indu, M. N.; Hatha, A. A. M.; Abirosh, C.; Harsha, U.; Vivekanandan, G. Antimicrobial activity of some of the South-Indian spices against serotypes of *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila*. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v. 37, n. 2, p. 153-158, apr./jun. **2006**
8. Nascimento, P. F. C. et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.17, p. 108-113, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v17n1/a20v17n1.pdf>>. Acesso em: 01 ago. **2017**.

Isadora N. Oliveira, Gustavo
O. Everton*, Anna Clara C.
Ferreira, Iure B. de Sousa,
Adenilde N. Mouchrek,
Amanda M. Teles & Victor E.
M. Filho

Universidade Federal do Maranhão, Departamento de Tecnologia Química,
Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleo Essenciais, CEP 65080-805,
São Luís, MA, Brasil.

*E-mail: gustavooliveiraeverton@gmail.com