

COMPARAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE EXTRATOS VEGETAIS DE ALECRIM, ESTRAGÃO E ORÉGANO COM ANTIBIÓTICOS DE USO TERAPÊUTICO

SCHNEID, Isabela¹; VOLOSKI, Flávia L.¹; FREITAS, Priscila F.¹; CHIM, Josiane F.²; MACHADO, Mírian R.G.²; GANDRA, Eliezer A.²

¹Acadêmicas do curso de Bacharelado em Química de Alimentos/UFPel ²Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos – UFPel, Campus Universitário s/n – Caixa Postal 354 – CEP 96010-900. gandraea@hotmail.com

1 INTRODUÇÃO

Os alimentos e a água desempenham importante papel para a saúde do consumidor. Dependendo de sua composição, manuseio e dos processos a que são submetidos podem se tornar veículos de transmissão de diversas doenças, originadas principalmente por microrganismos e seus produtos extracelulares (SILVA et al., 2007).

A fim de garantir a segurança e maior durabilidade dos produtos, a indústria alimentícia se utiliza da aplicação de conservantes químicos. Estes, por sua vez, têm sido alvos de inúmeros estudos em função do risco potencial carcinogênico e/ou teratogênico, passando a ser uma questão considerada, pelo consumidor, no momento da compra e do consumo dos alimentos. A combinação de ervas e condimentos com comprovada ação antimicrobiana pode ser utilizada na conservação de alimentos, diminuindo a concentração de aditivos sintéticos em tais produtos (SERPA et al., 2007). Neste contexto a indústria de alimentos busca alternativas, utilizando-se de Sistemas Antimicrobianos Naturais, resultantes de recursos renováveis (CARVALHO et al., 2006).

Os antimicrobianos são isolados de várias fontes incluindo plantas, animais e microrganismos. O mecanismo de ação de alguns antimicrobianos naturais usados em alimentos ainda não está completamente elucidada (SILVA, 2007).

No presente estudo objetivou-se comparar a resistência/sensibilidade de cepas padrão de *S. aureus* e de *E.coli* frente a antibióticos de uso terapêutico e extratos vegetais de alecrim, estragão e orégano.

2 METODOLOGIA

Separadamente alecrim, estragão e orégano secos, foram imersos em álcool etílico 96°GL, em uma proporção 1:10. A solução obtida foi colocada em banho-maria à temperatura de 35°C durante 24 horas. O extrato resultante foi filtrado com algodão para a retirada do resíduo sólido, e, posteriormente, o extrato alcoólico foi destilado e concentrado em rotaevaporador à temperatura de 50°C. O resíduo resultante foi reidratado com água estéril, passando a ser denominado solução antimicrobiana.

Cepas padrão de *Escherichia coli* (ATCC 8739) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) foram submetidas a testes de resistência e sensibilidade a antibióticos de uso comum e as soluções antimicrobianas dos extratos vegetais.

Os testes de resistência/sensibilidade aos antibióticos e aos extratos vegetais foram realizados de acordo com a técnica de antibiograma por difusão em ágar de acordo com protocolo proposto pelo NCCLS (2000),

As cepas eram mantidas congeladas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ em caldo *Brain-Heart-Infusion* (BHI) com Glicerol. A recuperação das cepas foi realizada em BHI com incubação por 24 horas a 37°C . Após este período, uma alíquota de cada cepa proveniente do BHI foi separadamente semeada em Agar Baird-Parker (*S. aureus*) e em Ágar Eosina Azul de metileno, EMB, (para *E. coli*) e incubada por 48 horas a 37°C . Uma colônia característica era então estriada em Agar *Brain-Heart-Infusion* (BHA) e Incubada por 24 horas a 37°C . Foram transferidas duas alçadas da cultura em BHA para solução salina estéril (NaCl 0,85%), até a turvação compatível com o grau 0.5 da escala de Mac Farland. Em seguida, com auxílio de *swab* estéril, as culturas foram inoculadas de forma homogênea em placas Ágar Muller-Hinton (MH). Após a secagem da superfície do ágar, foram colocados na superfície das placas multidiscos de antibióticos (Laborclin) nos quais estão aderidos discos de papel com diâmetro de 6mm impregnados com antibióticos para uso em antibiograma por difusão em ágar contendo os seguintes antibióticos: Eritromicina (ERI), Vancomicina (VAN), Cloranfenicol (CLC), Rifampicina (RIF), Gentamicina (GEN), Tetraciclina (TET), Sulfazotrim (SUT), Ciprofloxacina (CIP), Penicilina G (PEN), Oxacilina (OXA), Clindamicina (CLI), Cefepime (CPM), Cefoxitina (CFO), Amoxicilina (AMC), Cefuroxima (CRX), Cefalotina (CFL), Ampicilina (AMP), Meropenem (MER), Ceftazidima (CAZ), Amicacina (AMI).

As placas foram incubadas por 24 horas a 37°C , posteriormente, realizou-se a leitura dos testes, detectando-se a resistência ou sensibilidade a determinado antibiótico, de acordo com o tamanho dos halos formados ao redor do disco. Da mesma forma foram inoculados papéis filtros em formato de disco, previamente esterilizados, juntamente com $0,05\text{ }\mu\text{L}$ da solução antimicrobiana dos extratos vegetais para testar a resistência ou sensibilidade do microrganismo ao mesmo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos testes de resistência e sensibilidade das cepas de *S. aureus* e de *E.coli* aos extratos antibacterianos podem ser verificados na Tabela 1. Os resultados obtidos para os antibióticos constam na Tabela 2.

Tabela 1. Perfil de resistência e sensibilidade de *S. aureus* e de *E.coli* a extratos vegetais de alecrim, estragão e orégano.

Extrato (μg)	<i>S. aureus</i>	Perfil	<i>E.coli</i>	Perfil
	Halo (mm)		Halo (mm)	
Alecrim	0,0	-	11	-
Estragão	0,0	-	11	-
Orégano	12	-	0,0	-

Tabela 2. Perfil de resistência e sensibilidade de *S. aureus* e de *E. coli* a antibióticos de uso comum na terapia em medicina humana e veterinária, segundo a NCCLS (2000).

Antibiótico (µg)	<i>S. aureus</i> Halo (mm)	Perfil	<i>E. coli</i> Halo (mm)	Perfil
ERI (15)	15,0	R	0,0	NA
VAN (30)	0,0	R	0,0	NA
CLC (30)	26,0	S	0,0	NA
RIF (30)	12,3	R	0,0	NA
PEN (10)	0,0	R	0,0	NA
GEN (10)	12,0	R	14,0	I
TET (30)	23,5	S	0,0	NA
SUT (25)	25,5	S	11,0	R
CIP (5)	25,0	S	25,0	S
OXA (1)	0,0	R	0,0	NA
CLI (2)	0,0	R	0,0	NA
CPM (30)	12,0	R	0,0	R
CFO (30)	NA	NA	0,0	R
AMC (30)	NA	NA	0,0	R
CRX (30)	NA	NA	0,0	R
CFL (30)	NA	NA	0,0	R
AMP (10)	NA	NA	0,0	R
MER (10)	NA	NA	21,5	S
CAZ (30)	NA	NA	0,0	R
AMI (30)	NA	NA	18,5	S

Legenda:

ERI - Eritromicina, VAN - Vancomicina, CLC - Cloranfenicol, RIF - Rifampicina, GEN - Gentamicina, TET - Tetraciclina, SUT-Sulfazotrim, CIP - Ciprofloxacina, PEN - Penicilina G, OXA - Oxacilina, CLI - Clindamicina, CPM - Cefepime, CFO - Cefoxitina, AMC - Amoxicilina, CRX - Cefuroxima, CFL - Cefalotina, AMP - Ampicilina, MER - Meropenem, CAZ - Ceftazidima, AMI - Amicacina; R- Resistente, I - Intermediário, S - Sensível, NA - Não Avaliado.

Conforme pode ser observado na Tabela 1, a cultura de *E. coli* utilizada apresentou sensibilidade aos extratos de alecrim e de estragão. Porém foi resistente ao extrato de orégano. Já *S. aureus* apresentou sensibilidade somente ao extrato de orégano.

Ao ser comparado com os halos dos antibióticos (Tabela 2), os extratos de alecrim e estragão apresentaram maior atuação que oito dos doze antibióticos testados para *E. coli* e o extrato de orégano também teve atuação maior ou igual que oito antibióticos frente a *S. aureus*.

Estes resultados permitem inferir que há uma indicativa clara da presença de componentes antimicrobianos ativos nestes extratos.

O fato dos extratos de estragão e alecrim apresentarem efeito inibitório somente sobre *E. coli*, nos permite inferir que este extrato apresenta ação antimicrobiana principalmente contra bactérias gram negativas e no caso do orégano parece haver maior ação sobre os microrganismos gram positivos. Carvalho et al. (2006) relata que o estragão possui intensa atividade inibitória frente à *Salmonella Enteritidis* (bactéria gram-negativa). Segundo Ourives (1997), a ação antimicrobiana

do estragão deve-se principalmente a presença de metilchavicol em sua composição química.

Apesar de estes resultados serem animadores e permitirem inferir que os extratos testados apresentam potencial para serem utilizados na formulação de antibacterianos, são necessários maiores estudos sobre a aplicação, purificação e estabilização desses extratos para que seja possível utilizar estes na condição de antimicrobianos em alimentos.

4 CONCLUSÃO

Os extratos de alecrim, estragão e orégano, apresentaram efeito antimicrobiano igual ou superior a oito antibióticos de uso comum na terapia em medicina humana e veterinária frente a cepas padrão dos microrganismos *E. coli* e *S. aureus*.

5 REFERÊNCIAS

CARVALHO, H. H.; WIEST, J. M.; GRECO, D. P. **Atividade antibacteriana e a preditividade do condimento *Artemisia dracuncululus* Linn. (Asteraceae), variedade inodora – estragão - frente à *Salmonella* sp.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 26 , n. 1 , p. 75 - 79, 2006.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standards M7-A5.** Wayne, PA, 2000.

OURIVES, Eliete Auxiliadora Assumpção Ourives. **Avaliação da atividade antimicrobiana de condimentos vegetais (ervas aromáticas) em meio de cultura e peito de frango picado frente a *P. fluorescens*.** Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, 1997.

SERPA, R.; LIMA, M. C.; ZARINI, S.; KRAUSE, L. C.; RODRIGUES, M. R. A.; RIBEIRO, G. A. **Perfil Químico e Avaliação da Atividade Antibacteriana do Óleo Essencial do “Orégano” - *Origanum Vulgare* Linnaeus.** In: XVI CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E IX ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, Pelotas, 2007.

SILVA, J.P.L. **Avaliação da ação de antimicrobianos naturais no controle de *Salmonella* Enteritidis em salada de legumes com maionese.** Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos.** São Paulo: Livraria Varela, 296p. 1997.