

Área: Ciência de Alimentos

SUSCETIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE *Staphylococcus aureus* FRENTE A ÓLEOS ESSENCIAS

Maisa Cristina Benincá^{1*}, Bruna Webber¹, Daniela Bohrz¹, Suelen Priscila Santos¹,
Caroline Dos Santos Peixoto¹, Laura Beatriz Rodrigues¹

¹PPGBioexp, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Passo Fundo, RS

*E-mail: mai_beninca@hotmail.com

RESUMO: As contaminações bacterianas em alimentos podem resultar em muitas doenças, causando preocupações a indústria alimentícia. Este estudo avaliou a ação bacteriana *in vitro* de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), orégano (*Origanum compactum*), canela (*Cinnamomum cassia*), cravo (*Eugenia caryophyllus*) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.), pelo método de disco difusão, frente a 15 isolados de *Staphylococcus aureus* e a cepa de *S. aureus* ATCC 25923. Os óleos de *Origanum compactum* e *Thymus vulgaris* foram mais eficazes, com a média dos halos de 24,63 mm para *Origanum compactum* e 22,56 mm a média dos halos de *Thymus vulgaris* L.. Os óleos de *Eugenia caryophyllus* apresentaram uma média de 18,09 mm e o de *Cinnamomum cassia* de 4,11mm. O óleo de *Zingiber officinale* Roscoe não teve atividade antibacteriana em nenhum dos isolados. Por estes motivos, avaliamos que os óleos essenciais *Origanum compactum* e *Thymus vulgaris* podem ser utilizados como alternativas naturais para o controle microbiano de *S. aureus*.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, óleo essencial, atividade antibacteriana, segurança alimentar.

1 INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus causa gastroenterite alimentar, devido a ingestão de alimentos que contenham uma ou mais de suas enterotoxinas, pré-formadas por cepas enterotoxigênicas. No cenário epidemiológico mundial, este microrganismo é considerado um dos mais relevantes causadores de doenças transmitidas por alimentos. Estudos mostram que esta bactéria é tolerante ao calor, pH, ácidos e sais, gerando preocupação para as indústrias de alimentos (TAVARES et al., 2015; JAMAL et al., 2017;)

Presentes em ambientes bióticos e abióticos, são formadores de biofilmes em muitas superfícies, podendo levar a uma contaminação por serem resistentes aos procedimentos de saneamento e ação do sistema inune (MORENTE; DEL POSTIGO RUIZ; PULIDO, 2015; THIRAN et al., 2017)

Com interesse em aumentar a segurança dos alimentos e a vida útil dos produtos, conservantes químicos sintéticos são amplamente usados na indústria de alimentos. Porém, podem apresentar efeitos indesejáveis como carcinogenicidade, teratogenicidade e toxicidade (LEI et al., 2017). Frente a isso, indústrias de alimentos estão constantemente buscando alternativas antimicrobianas, por meio de recursos naturais, como o uso de óleos essenciais (OEs), relatados como seguros e por possuírem efeito antimicrobiano (ZHANG et al., 2017a).

A atividade antimicrobiana dos OEs está ligada à sua hidrofobicidade, que permite a associação aos lipídios da membrana celular e das mitocôndrias, tornando os óleos permeáveis, causando perdas do conteúdo das células. Condições físicas, como o baixo pH, baixa temperatura e baixos níveis de oxigênio melhoram a ação antimicrobiana dos óleos (BURT, S.A., 2004). Os OEs mostram atividade antimicrobiana promissora contra microrganismos patogênicos e bactérias deteriorantes, inibindo a atividade antioxidante quando administrado *in vitro* (BAG, CHATTOPADHYAY, 2015).

Segundo D'Amanto et al. (2016), o óleo essencial de tomilho é eficaz para ser aplicado na superfície de carne fresca sem afetar o perfil sensorial do produto, sendo um bom conservante natural, com perspectivas de prolongar a vida útil. O OE de cravo é bastante usado para aromatizar alimentos e bebidas, apresenta propriedade antimicrobiana, anti-inflamatória e antioxidante, com aplicabilidade na conservação de alimentos (ZHANG et al., 2017b). A canela apresenta compostos como cinamaldeído e eugenol, usados como aromatizante e conservante natural de alimentos, que possuem a capacidade de reduzir o crescimento de fungos e bactérias (SHAN et al., 2007; SILVA et al., 2009). O orégano tem sido usado como agente aromatizante em carnes, por apresentar compostos antioxidantes e antimicrobianos. O carvacol e o timol são os dois principais fenóis, sendo que constituem 78-85% de concentração para atividade antimicrobiana (GOVARIS et al., 2010; FRATINI et al., 2017). Por possuir propriedades farmacológicas, antibacterianas e antioxidante, o óleo de gengibre é muito usado nos alimentos, como especiarias e uso em corantes (SAENSOUK et al., 2016).

De modo a complementar estudos que contemplem a ação de OEs no combate a bactérias patogênicas, com possibilidade de uso na indústria de alimentos, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a ação antimicrobiana *in vitro* de diferentes óleos essenciais sobre *Staphylococcus aureus*.

2 MATERIAS E MÉTODOS

Foram utilizados 15 isolados de *Staphylococcus aureus*, obtidos no processo de obtenção de leite cru, com perfil de multirresistência a antibióticos e formadores de biofilme (BORHZ, 2016). As suspensões de microrganismos foram preparadas em solução salina, sob a concentração 0,5 da Escala de MacFarland. Os óleos essenciais foram adquiridos de fornecedores comerciais (Oshadii[®]) e selecionados por terem diferentes graus de ação antimicrobiana frente a bactérias patogênicas, como gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), orégano (*Origanum compactum*), canela (*Cinnamomum cassia*), cravo (*Eugenia caryophyllus*), e tomilho (*Thymus vulgaris*

L.) (MAJOLO et al., 2014 MITH et al., 2014; DE CARVALHO et al., 2015). Todos os óleos foram previamente caracterizados por cromatografia gasosa e espectrofotometria de massa (CG/MS).

A atividade antibacteriana dos óleos essencial foi testada pelo método de ágar difusão (BALOUIRI et al., 2016), inoculando os *S. aureus* com um *swab* estéril embebido na suspensão bacteriana e semeado em oito direções em placa com Ágar Mueller Hinton (Kasvi®). Logo após um orifício com diâmetro de 6 a 8 mm foi puncionado assepticamente com um perfurador estéril. Colocou-se no poço 80 µL dos óleos essenciais na concentração de 100%. As placas de ágar foram incubadas a 37°C ± 1°C por 24 horas. O agente antimicrobiano difundiu-se no ágar para inibir o crescimento da estirpe microbiana testada. A leitura foi realizada através da medida do diâmetro do halo de inibição, mensurada em milímetros (mm). Óleo mineral estéril foi usado como controle negativo e *S. aureus* ATCC 25923 como microrganismo controle.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A ação dos óleos essenciais na inibição do *S. aureus* foi estabelecida pelo método de ágar difusão, e os resultados obtidos encontram-se na Tabela 1. O óleo de orégano obteve a melhor ação antimicrobiana, pois apresentou o maior halo de inibição frente a 16 cepas isolados, seguido do óleo essencial de tomilho.

Os óleos essenciais de orégano e tomilho foram os únicos que apresentaram atividade inibitória em todos os isolados. Podemos observar que o menor halo de inibição do óleo de orégano foi de 20,5 mm de diâmetro no *S. aureus* identificado com o número 1, e o maior halo no *S. aureus* 14, com 30 mm. Já no óleo essencial de tomilho o *S. aureus* 1 teve halo de 16,5 mm e o *S. aureus* 4 teve a maior halo, com 29,3 mm. Podemos notar que o *S. aureus* 1 foi o mais resistente, com os menores resultados de halos de inibição bacteriana. O OE de gengibre não foi efetivo, sem halo de inibição para nenhum dos isolados

A primeira atividade de inibição bacteriana dos OEs de orégano e tomilho foi relatada em 1950, por possuem alto teor de timol e carvacrol, tendo capacidade de permeabilização e despolarização da membrana plasmática, sendo eficazes contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (OUSSALAH et al., 2007; VASILE et al., 2017; LAGHMOUCHI et al., 2018)

Tabela 1. Valores médios de halos de inibição (mm) formados pela ação dos OEs de *Zingiber officinale* Roscoe, *Origanum compactum*, *Cinnamomum cassia*, *Eugenia caryophyllus* e *Thymus vulgaris* L.

Amostras	Óleos essenciais*				
	Orégano	Tomilho	Cravo	Canela	Gengibre
<i>Staphylococcus aureus</i>					
1	20,5aC	16,5aB	20,5bC	0aA	0aA
2	22,3aB	23bB	0aA	0aA	0aA
3	22aB	19aB	18bB	0aA	0aA
4	23,3aC	29,3cD	24,6cC	12bB	0aA
5	23,6aB	23,6bB	22cB	0aA	0aA
6	24,3aC	19,3aB	23,3cC	0aA	0aA
7	29bD	24cC	24,6cC	10bB	0aA
8	26bC	19aB	23,3cC	0aA	0aA
9	25,5bD	21bC	16bB	0aA	0aA
10	22,5aB	21bB	0aA	0aA	0aA
11	20,3aB	19,3aB	17bB	0aA	0aA
12	27,3bD	22,6bC	24cC	15,5cB	0aA
13	26,5bB	23bB	0aA	0aA	0aA
14	30bD	27,3cD	19bC	13,5bB	0aA
15	21aB	21,3bB	19bB	00aA	0aA
ATCC 25923	28,6bC	28,6cC	21cB	19cB	0aA
Média dos halos	24,63	22,56	18,09	4,11	0

* Diâmetro dos halos em milímetros (mm).

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não difere entre si pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0,05$).

4 CONCLUSÃO

Concluimos que os óleos essenciais de orégano e tomilho foram os únicos que agiram em todos os isolados de *Staphylococcus aureus*, podendo vir a ser uma alternativa segura para substituição de aditivos químicos, contribuindo com a saúde do consumidor.

5 REFERÊNCIAS

AKINYEMI, A. J. et al. Dietary supplementation of ginger and turmeric improves reproductive function in hypertensive male rats. **Toxicology Reports**, v. 2, p. 1357–1366, 2015.

BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 6, n. 2, p. 71–79, 2016.

BORHZ, Daniela. Formação de biofilmes e multirresistência a antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* isolados da higienização de ambiente de ordenha. **Dissertação** (Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação). Universidade de Passo Fundo (UPF), 2015.

DE CARVALHO, R. J. et al. Comparative inhibitory effects of *Thymus vulgaris* L. essential oil against *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and mesophilic starter co-culture in cheese-mimicking models. **Food Microbiology**, v. 52, p. 59–65, 2015.

FRATINI, F. et al. A novel interpretation of the Fractional Inhibitory Concentration Index: The case *Origanum vulgare* L. and *Leptospermum scoparium* J. R. et G. Forst essential oils against *Staphylococcus aureus* strains. **Microbiological Research**, v. 195, p. 11–17, 2017.

GOVARIS, A. et al. The antimicrobial effect of oregano essential oil, nisin and their combination against *Salmonella Enteritidis* in minced sheep meat during refrigerated storage. **International Journal of Food Microbiology**, v. 137, n. 2–3, p. 175–180, 2010.

JAMAL, M. et al. Bacterial biofilm and associated infections. **Journal of the Chinese Medical Association**, p. 5–9, 2017.

LAGHMOUCHI, Y. et al. Chemical composition and antibacterial activity of *Origanum compactum* Benth. essential oils from different areas at northern Morocco. **South African Journal of Botany**, v. 115, p. 120–125, 2018.

LEI, H. et al. Characterization of ginger essential oil/palygorskite composite (GEO-PGS) and its anti-bacteria activity. **Materials Science and Engineering: C**, v. 73, p. 381–387, 2017.

MITH, H. et al. Antimicrobial activities of commercial essential oils and their components against food-borne pathogens and food spoilage bacteria. **Food Science & Nutrition**, v. 2, n. 4, p. 403–416, 2014.

MORENTE, E. O.; DEL POSTIGO RUIZ, A. G.; PULIDO, R. P. *Staphylococcus*: Detection. **Encyclopedia of Food and Health**, p. 128–132, 2015.

OUSSALAH, M. et al. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v. 18, n. 5, p. 414–420, 2007.

SAENSOUK, S. et al. Diversity and uses of Zingiberaceae in Nam Nao National Park, Chaiyaphum and Phetchabun provinces, Thailand, with a new record for Thailand. **Agriculture and Natural Resources**, v. 50, n. 6, p. 445–453, 2016.

SHAN, B. et al. Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): Activity against foodborne pathogenic bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 14, p. 5484–5490, 2007.

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 Mediciniais**, v. 11, n. 3, p. 257–262, 2009.

TAVARES, A. G. et al. Habituation of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* to *Origanum vulgare* L. Essential oil does not induce direct-tolerance and cross-tolerance to salts and organic acids. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 3, p. 835–840, 2015.

THIRAN, E. et al. Biofilm formation of *Staphylococcus aureus* dairy isolates representing different genotypes. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 2, p. 1000–1012, 2017.

VASILE, C. et al. Comparative Analysis of the Composition and Active Property Evaluation of Certain Essential Oils to Assess their Potential Applications in Active Food Packaging. **Materials**, v. 10, n. 1, p. 45, 2017.

ZHANG, L. L. et al. Chemical composition, antibacterial activity of *Cyperus rotundus* rhizomes essential oil against *Staphylococcus aureus* via membrane disruption and apoptosis pathway. **Food Control**, v. 80, p. 290–296, 2017a.

ZHANG, Y. et al. Antibacterial and antibiofilm activities of eugenol from essential oil of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry (clove) leaf against periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*. **Microbial Pathogenesis**, v. 113, p. 396–402, 2017b.