

Atividade antimicrobiana e efeito antibiofilme de óleos essenciais: um estudo comparativo

Antimicrobial activity and antibiofilm effect of essential oils: a comparative study

DOI:10.34117/bjdv8n11-204

Recebimento dos originais: 14/10/2022

Aceitação para publicação: 17/11/2022

Ana Cecília Cerri

Graduanda do Curso de Farmácia

Instituição: Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG)

Endereço: Av. General Carlos Cavalcanti, 4748, Ponta Grossa - Paraná

E-mail: anacecilia.cerri@yahoo.com.br

Luis Antonio Esmerino

Doutorado em Odontologia (Farmacologia)

Instituição: Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG)

Endereço: Av. General Carlos Cavalcanti, 4748, Ponta Grossa - Paraná

E-mail: esmerino@uepg.br

RESUMO

Os óleos essenciais (OEs) são substâncias voláteis, produzidas pelo metabolismo secundário das plantas. Cada OE pode apresentar diversos princípios ativos, despertando o interesse da área farmacêutica, indústria alimentícia, cosmética, perfumaria, produção de inseticidas, bem como dos consumidores. O presente trabalho investigou a atividade antimicrobiana (AA) e o efeito antibiofilme (EAB) de seis OEs, sendo: *Curcubita pepo* (semente de abóbora), *Cymbopogon nardus* (citronela), *Rosmarinus officinalis* (alecrim), *Cinnamomum cassia* (canela), *Origanum vulgare* (orégano) e *Eucalyptus globulus* (eucalipto). Para AA foi utilizada a técnica da concentração inibitória mínima (CIM) por macrodiluição e o EAB foi determinado pela coloração com cristal violeta. OEs nas concentrações de 4000 – 32,1 µg/mL foram testados frente cepas ATCC de *S. aureus* 25923 e 6538, *E. coli* 25922 e *C. albicans* 10231. Efeito antibiofilme foi testado frente *S. aureus* 25923 e 6538. Os óleos de canela e orégano foram os mais efetivos e apresentaram uma forte AA e um significativo EAB. Os óleos de citronela, alecrim e eucalipto apresentaram moderada AA e EAB. O óleo de semente de abóbora apresentou muito baixa AA e não apresentou EAB. Frente aos microrganismos os OEs testados apresentaram melhor atividade antifúngica. A atividade antibacteriana foi melhor para cocos Gram-positivos que para bacilos Gram-negativos. Muitos fatores podem alterar o teor dos princípios ativos presentes nos OEs e muitas variáveis são geralmente observadas e relatadas em diferentes trabalhos. Dessa forma, novos estudos são importantes para se conhecer melhor suas propriedades, efeitos biológicos, bem como seu espectro de ação.

Palavras-chave: semente de abóbora, citronela, alecrim, canela, orégano, eucalipto.

ABSTRACT

Essential oils (EOs) are volatile substances that are produced by the secondary metabolism of plants. Each EO can present several active properties, attracting the interest

of the pharmaceutical, food, cosmetics, perfumery, and insecticide industries, as well as consumers. The present study aimed to investigate the antimicrobial activity (AA) and antibiofilm effect (ABE) of six essential oils, namely: *Cucurbita pepo* (pumpkin seed), *Cymbopogon nardus* (citronella), *Rosmarinus officinalis* (rosemary), *Cinnamomum cassia* (cinnamon), *Origanum vulgare* (oregano), and *Eucalyptus globulus* (eucalyptus). Antimicrobial activity was assessed using the minimum inhibitory concentration (MIC) technique by macrodilution and the ABE was determined by staining with crystal violet. The EOs at concentrations of 4000 – 32.1 µg/mL were tested against ATCC strains of *S. aureus* 25923 and 6538, *E. coli* 25922, and *C. albicans* 10231. The antibiofilm effect was tested against *S. aureus* 25923 and 6538. Among the analyzed EOs, the cinnamon and oregano oils were the most effective, showing strong AA and a significant ABE. The citronella, rosemary, and eucalyptus oils showed moderate AA and ABEs, whereas pumpkin seed oil showed very low AA and no ABE. The analyzed EOs showed greater antifungal activity than the tested microorganisms. The antibacterial activity was more evident for Gram-positive cocci than for Gram-negative bacilli. Several factors can change the active ingredient content present in essential oils and many variables are generally observed and reported in different works. Thus, further studies aiming at better understanding their properties and biological effects, as well as their spectrum of action.

Keywords: pumpkin seed, citronella, rosemary, cinnamon, oregano, eucalyptus.

1 INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais são substâncias voláteis, produzidas pelo metabolismo secundário das plantas. A análise dos componentes dos OEs é geralmente realizada pela cromatografia gasosa e cada óleo pode apresentar até 300 componentes, razão da sua grande abrangência terapêutica, atuando em diversos sistemas no corpo, como também na psique. Diversos constituintes presentes nos OEs têm sido relatados, como: o limoneno, pineno, mentol, eugenol, timol, carvacrol, cinamaldeído, eucaliptol, entre outros ¹.

Esses princípios ativos vêm sendo utilizados em diversas áreas, como na farmacêutica, na indústria alimentícia, na cosmética, na perfumaria e na produção de inseticidas. Assim, os OEs com potenciais aplicações na conservação de alimentos tem ganhado força e cada vez mais, os consumidores têm dado preferência aos alimentos seguros e que provoquem pouco ou nenhum impacto à saúde e ao meio ambiente. Por serem extraídos de plantas medicinais, os OEs possuem características farmacológicas importantes, além de serem uma alternativa de tratamento menos agressivo ^{2, 3}. Extratos de ervas com atividade antimicrobiana têm sido utilizados na indústria cosmética para reduzir o risco de alergias relacionadas à presença de metilparabenos ⁴. Nesta

perspectiva, os OEs com propriedades antimicrobianas e antioxidantes vêm sendo utilizados.

No presente trabalho foram testados OEs para comparação da sua AA e EAB. Andrade et al (2012)⁵ relataram atividade antimicrobiana para citronela (*Cymbopogon nardus*) e canela (*Cinnamomum zeylanicum*). Os OEs apresentaram AA tanto para bactérias Gram-negativas como para bactérias Gram-positivas, sendo que o óleo essencial de *C. zeylanicum* (canela) foi o mais eficiente. A canela é usada para doenças como inflamação, distúrbios gastrointestinais e infecções urinárias, além de aromatizante e na medicina chinesa como um neuro protetor e para o tratamento de diabetes⁴. Segundo de Medeiros et al (2020)⁶ evidências científicas têm revelado que o extrato de *Rosmarinus officinalis* (alecrim) possui grande poder antibacteriano, antifúngico, anti-inflamatório e antioxidante, além de atuar efetivamente reduzindo biofilmes polimicrobianos importantes na odontologia. O óleo de alecrim possui propriedades estimulantes, antiespasmódicas, sendo seu óleo essencial usado como estimulante, inseticida e desodorante bucal⁷. O óleo de orégano possui atividade antioxidante, antifúngica e antibacteriana, além de auxiliar na redução dos níveis de colesterol no sangue⁸. Araújo e Longo (2016)⁹ relataram que o óleo essencial de *Origanum vulgare* (orégano) mostrou poder de inibição do crescimento e viabilidade das cepas de *S. aureus* e *E. coli*. O óleo de eucalipto tem atividades biológicas surpreendentes incluindo AA, anti-séptica, antioxidante, quimioterápica, sendo utilizado no tratamento de distúrbios respiratórios, gastrointestinais e cicatrização de feridas¹⁰. Mota et al (2015)¹¹ relataram que o óleo de *Eucalyptus globulus* apresentou maior inibição que a clorexidina quando aplicado a *S. aureus*, e igual inibição quando aplicado para *E. coli* e *C. albicans*. Diversas partes da *Cucurbita pepo* são utilizadas como alimento e na medicina popular em diversos países. Extratos e metabólitos desta planta, particularmente aqueles de sementes e frutos, possuem atividades farmacológicas úteis, principalmente por sua melhora na hiperplasia prostática benigna, disfunção urinária, hepatoproteção, atividade antioxidante, anticancerígena, antimicrobiana, anti-inflamatória, antidiabética e antiúlcera¹². Seu óleo essencial tem sido utilizado na redução da hiperplasia prostática benigna, onde o aumento da próstata pode eventualmente comprimir o canal uretral, gerando sintomas no trato urinário inferior e aumentando o risco de infecção urinária¹³. Os OEs, porém, podem apresentar diferenças na atividade devido às localizações geográficas, época de coleta, genótipo e condições climáticas, fazendo-se necessária a caracterização dos compostos

bioativos e responsáveis pela atividade. Diferentes composições dos OEs os tornam mais efetivos contra determinadas espécies de bactérias ¹⁴.

A quimioterapia antimicrobiana revolucionou a medicina moderna e reduziu significativamente a morte por doenças infecciosas. No entanto, antimicrobianos anteriormente bem-sucedidos tem selecionado microrganismos resistentes e isso vem diminuindo progressivamente sua eficácia. Certas bactérias podem secretar uma camada de polímero extracelular, chamado de biofilme, que se acumula e envolve as células bacterianas para resistir aos antimicrobianos. Bactérias em biofilme apresentam mais resistência a múltiplos antimicrobianos que bactérias planctônicas. Nas infecções intracelulares, a maioria dos antimicrobianos têm baixa penetração celular limitando sua ação ¹².

Atualmente, a resistência bacteriana é um problema de saúde pública mundial, fazendo-se necessária a descoberta de novos antimicrobianos, sendo que os OEs contêm diversos metabólitos secundários que podem inibir ou retardar o crescimento de bactérias, leveduras e bolores tornando-se interessante o estudo desses para o desenvolvimento de novos bioativos ¹⁴.

Por outro lado, muitos suplementos alimentares têm sido utilizados e uma vez tendo forte atividade antimicrobiana poderiam causar disbiose intestinal, que segundo NeuHannig et al (2019)¹⁵ é uma condição favorável para a expressão de muitas doenças crônicas da atualidade e a sua causa está relacionada a mudanças no estilo de vida, ao consumo de alimentos industrializados, a exposição de toxinas ambientais e condutas medicamentosas, entre outras.

Diante do grande interesse das áreas farmacêutica, indústria alimentícia, cosmética, perfumaria, produção de inseticida, bem como dos consumidores, o presente estudo investigou a atividade antimicrobina e o efeito antibiofilme de seis óleos essenciais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

No presente trabalho a AA foi estudada com os OEs de semente de abóbora (*Curcubita pepo*), citronela (*Cymbopogon nardus*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), canela (*Cinnamomum cassia*), orégano (*Origanum vulgare*) e eucalipto (*Eucalyptus globulus*). A atividade antimicrobiana foi avaliada e comparada frente as bactérias Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (SA25923) e 6538 (SA6838), Gram-

negativa: *Escherichia coli* ATCC 25922 (EC25922) e a atividade antifúngica foi vista frente a levedura *Candida albicans* ATCC 10231 (CA10231). Foram utilizados OEs comerciais sendo que para semente de abóbora foram utilizados dois óleos de marcas diferentes. Foi utilizado o teste da CIM por macrodiluição em caldo Muller-Hinton, adaptado Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015)¹⁶, em tubos com volume final de 1,0 mL. O EAB foi determinado pela técnica da coloração com cristal violeta 0,5% adaptada de Stepanovic et al (2000)¹⁷.

Para uma melhor dissolução dos óleos foi preparada uma solução mãe de 40 mg/mL, sendo preparada com 80µL do óleo essencial, 120µL de caldo Muller-Hinton com Tween 80 a 2% e 1800 µL de caldo Muller-Hinton. Para *Candia albicans* utilizou-se o caldo Muller-Hinton com 2% de glicose. Dessa solução foram feitas diluições e as concentrações finais testadas foram: 4000, 2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5 e 31,2 µg/mL. Ao volume de 1,0 mL foi adicionado 50µL da suspensão padrão 0,5 da escala de MacFarland, diluída 1:10. Os testes foram feitos em triplicata, com controles de crescimento do microrganismo teste e branco. Após período de incubação de 24 horas a 35°C foram transferidos 200 µl dos tubos para a placa de microtitulação de 96 cavidades e três leituras da densidade óptica (DO) foram feitas, em 630nm, no leitor de microplacas de multidetecção híbrida SynergyTMH1, com software Gen5.2. O percentual de inibição foi proporcionalmente calculado com base no crescimento dos microrganismos sem a presença do óleo essencial, que foi equivalente a 100%. O branco foi descontado da leitura da DO e a atividade inibitória foi a diferença entre a taxa do crescimento dos testes em relação aos controles. A CIM⁹⁰ foi designada para inibições do crescimento de ≥90% e CIM⁵⁰ para inibições ≥50 e <90%.

O EAB foi pesquisado com as cepas SA25923 e SA6538, pois as cepas EC25922 e CA10231 não produziram biofilme. O teste foi realizado através da técnica da microplaca corada com cristal violeta 0,5% adaptada de Stepanovic et al (2000)¹⁷. As soluções com os OE foram preparadas na concentração de 1000 µg/mL, como reportado acima. Na placa de microtitulação foi adicionado inicialmente 20µL da suspensão bacteriana no padrão 0,5 da escala de MacFarland e em seguida a placa foi incubada a 35°C por 60 minutos, para o início do biofilme, em seguida foi adicionado 200µL do caldo Muller-Hinton com os óleos essenciais. Após incubação a 35°C por 24 horas seguiu-se a técnica anteriormente citada. O biofilme formado foi determinado por três leituras da DO em 540nm no leitor de microplacas. O EAB foi calculado em percentual

de inibição do biofilme (%). Para o cálculo, o biofilme do microrganismo teste foi considerado 100% (inibição 0%) e os demais percentuais de biofilme foram proporcionalmente calculados mediante a leitura da DO, descontado o branco, sendo o efeito inibitório a diferença. Análise estatística mostrou que DO obtidas foram estatisticamente significantes ($p < 0,05$) em relação ao microrganismo teste (cepa ATCC).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atividade antimicrobiana dos OEs de semente de abóbora, citronela, alecrim, canela, orégano e eucalipto, foram avaliadas pelo método de marcodiluição em caldo. Segundo Bona et al (2014)¹⁸ o método de diluição em caldo apresenta resultados mais reprodutíveis, mostrando ser mais econômico e confiável, quando comparado com outros métodos utilizados para avaliação da AA de extratos vegetais.

Para avaliação da AA foi utilizado um escore sendo: sem detecção de CIM⁵⁰ (0/-) sem atividade; CIM⁵⁰ (+) escore 1-4, muito baixa, CIM⁹⁰ ≥ 2000 (++) baixa 5-8, CIM⁹⁰ 1000 $\mu\text{g/mL}$ (+++) 9-12 moderada e CIM⁹⁰ ≤ 500 $\mu\text{g/mL}$ (+++++) 13-16 forte. Esse escore foi adaptado do proposto por Aliganis et al (2001)¹⁹ para avaliação da AA em materiais vegetais. Além do escore foi determinada uma pontuação onde cada (+) representou um ponto e a soma dos pontos foi utilizada para determinar a AA dos OEs frente a um determinado microrganismo. Assim, quanto maior a pontuação maior a AA.

Para SA25923 (Tabela 1) o óleo de semente de abóbora não apresentou CIM⁹⁰, sendo observado CIM⁵⁰ 1000 $\mu\text{g/mL}$, apresentado muita baixa atividade (+). Especificamente para o óleo de semente de abóbora foram utilizados dois óleos de marcas diferentes e o resultado foi expresso pela média. Os demais apresentaram CIM⁹⁰ nas concentrações estudadas, sendo que para essa cepa o alecrim apresentou CIM⁹⁰ 2000 $\mu\text{g/mL}$ e a AA foi considerada baixa (++) . Os óleos de citronela e eucalipto apresentaram atividade moderada com CIM⁹⁰ 1000 $\mu\text{g/mL}$ (+++) e os óleos de canela e orégano apresentaram forte atividade com CIM⁹⁰ 125 $\mu\text{g/mL}$ (++++).

Em comparação com outros estudos, Cutrim et al (2019)²⁰ relataram ação inibitória para *Rosmarinus officinali* (alecrim) frente *S. aureus*, para extratos e óleo essencial, respectivamente, porém com concentrações menores do que observadas no nosso estudo. Araújo e Longo (2016)⁹ relataram que OE de *Origanum vulgare* (orégano) mostrou poder de inibição do crescimento e viabilidade da cepa de *S. aureus* ATCC 25923, concordando com os nossos resultados.

Tabela 1 – Escore da Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais em comparação.

Microrganismos	Atividade antimicrobiana				Escore	
	OE	SA25923	SA6538	EC25922		CA10231
S. abóbora		1000 ^{CIM50+}	1000 ^{CIM50+}	0/-	2000 ^{CIM50+}	3
Citronela		1000 ^{CIM90+++}	1000 ^{CIM90+++}	1000 ^{CIM50+}	500 ^{CIM90++++}	11
Alecrim		4000 ^{CIM90++}	4000 ^{CIM90++}	4000 ^{CIM50+}	500 ^{CIM90++++}	9
Canela		125 ^{CIM90++++}	250 ^{CIM90++++}	500 ^{CIM50+}	62,5 ^{CIM90++++}	13
Orégano		125 ^{CIM90++++}	125 ^{CIM90++++}	250 ^{CIM50+}	125 ^{CIM90++++}	13
Eucalipto		1000 ^{CIM90+++}	2000 ^{CIM90++}	2000 ^{CIM50+}	500 ^{CIM90++++}	10
Pontuação		17	16	5	21	-

Escore: AA (0/- sem atividade; 1-4 muito fraca; 5-8 fraca; 8-12 moderada e 13-16 forte).

Para SA6538 (Tabela 1) a CIM⁹⁰ foi observada para todos os OE em estudo. *Staphylococcus aureus subsp. aureus* Rosenbach ATCC 6538 é utilizado em meios de teste, esterilidade, sanitizantes, desinfetantes, conservantes antimicrobianos e na resistência bacteriana em tapetes e têxteis. Para essa cepa, os óleos de canela e orégano apresentaram forte atividade como CIM⁹⁰ nas concentrações de 250 e 125 µg/mL (++++), respectivamente; a citronela moderada CIM⁹⁰ 1000 µg/mL (+++) e os óleos de alecrim e eucalipto mostraram fraca atividade com CIM⁹⁰ 4000 e 2000 µg/mL (++) , respectivamente. O óleo de semente de abóbora não apresentou CIM⁹⁰, sendo observado CIM⁵⁰ 1000 µg/mL, apresentado muita baixa atividade (+).

Andrade et al (2012) ⁵ relataram para SA6538 CIM maior para citronela (*Cymbopogon nardus*) do que para a canela (*Cinnamomum zeylanicum*). Resultado semelhante foi observado no nosso trabalho, citronela CIM⁹⁰ 1000 µg/ml e canela 250 µg/ml, embora o óleo de canela no nosso trabalho seja de *Cinnamomum cassia*.

Para EC25922 (Tabela 1) o óleo de semente de abóbora não apresentou atividade (0/-). Os demais OE não apresentaram CIM⁹⁰, sendo observada apenas a CIM⁵⁰ e a AA frente à cepa foi considerada muito baixa (+). Os óleos de orégano e canela apresentaram melhor AA com CIM⁵⁰ nas concentrações de 250 e 500 µg/mL, respectivamente. Para o óleo de canela a atividade antimicrobiana foi melhor do que para o óleo de citronela com CIM⁵⁰ 1000 µg/mL. Resultado semelhante foi observado por Andrade et al (2012)⁵ utilizando a cepa *E. coli* ATCC 11229. Man et al (2019) ²¹ relataram que cocos Gram-positivos são mais suscetíveis aos OEs do que *Escherichia coli*. Resultado semelhante foi observado no nosso trabalho onde para *E. coli* a CIM⁹⁰ não foi determinada, sendo determinada apenas a CIM⁵⁰, enquanto para o *S. aureus* a CIM⁹⁰ foi determinada em todos

os óleos testados. Contrucci et al (2019)²² estudaram o efeito de OEs sobre bactérias Gram-negativas isoladas de alimentos e relataram a CIM para *Escherichia coli* em percentagem (%) sendo: *Eucaliptus globolus* (1,57%), *Rosmarinus officinalis* (1,57% e *Cymbopogon nardus* (3,13%). No nosso estudo utilizamos concentrações menores e não determinamos CIM, sendo para eucalipto CIM⁵⁰ 2000 µg/mL com inibição de 77% do crescimento, para alecrim CIM⁵⁰ 4000 µg/mL inibindo 81% e citronela CIM⁵⁰ 1000 µg/mL inibindo 59%, assim, nossos resultados para *E. coli* citronela apresentou melhor resultado, seguido do eucalipto e alecrim. Diferenças na determinação da CIM relatadas em diferentes trabalhos provavelmente se devem a variações na composição dos óleos essenciais.

Para CA10231 (Tabela 1) os OEs em estudo apresentaram CIM⁹⁰ ≤ 500 µg/mL, apresentando forte atividade (++++), exceto o óleo de semente de abóbora que não apresentou CIM⁹⁰, sendo observado CIM⁵⁰ 1000 µg/mL (+). O óleo de canela (Figura 1) e orégano (Figura 2) apresentaram as menores CIM⁹⁰, sendo 62,5 e 125 µg/ml, respectivamente. Para a canela nossos resultados concordam com Ferrão et al (2000)²³, que determinaram a atividade antifúngica de óleos essenciais, sendo relatado CIM de 500 a 31,25 µg/ml para *C.albicans*. Para o alecrim, uma revisão da literatura sobre o uso de óleos essenciais sobre *Candida* spp. Boiotto et al (2021)²⁴ relataram que o OE de *Rosmarinus officinalis* possui atividade antifúngica.

Para a avaliação da AA dos OEs estudados, frente aos microrganismos, foi estabelecido um escore, anteriormente citado, e a Tabela 1 apresenta o resultado. Os óleos de alecrim (escore 9), eucalipto (10) e citronela (11) apresentaram AA moderada. Os óleos de canela e orégano (13) apresentaram forte AA. Com a soma da pontuação dos escores avaliou-se a AA dos OE frente aos microrganismos, a melhor atividade dos OEs foi para *Candida albicans* (pontuação 21). Para SA25923 e SA6538 17 e 16, respectivamente, a atividade foi moderada e para *Escherichia coli*, pontuação 5, os OEs apresentaram baixa atividade. O óleo de semente de abóbora com escore 3 apresentou muito baixa AA. Todavia esse OE tem sido utilizado principalmente por sua melhora na hiperplasia prostática benigna¹². Dubey et al (2010)²⁵ estudaram o extrato metanólico do fruto de *Curcubita pepo* e relataram AA de moderada a alta contra várias cepas bacterianas, entre as quais, *E. coli*, *S. aureus* e *C. albicans*. Particularmente, não encontramos referências sobre AA do OE de *Curcubita pepo* e esse foi um dos motivos de incluir esse óleo no nosso estudo.

Figura 1 – Leitura visual da atividade antimicrobiana pela técnica de marodiluição em tubos do óleo essencial de *Cinnamomum cassia* (canela) frente *Candida albicans* ATCC 10231. A CIM⁹⁰ foi observada no tubo 7, equivalente a 62,5 µg/mL, comparado com o controle a inibição foi de 100%. Nos tubos 1 a 8 concentrações de 4000 - 31,2 µg/mL. Tubo controle (C) mostra o crescimento da levedura sem OE e o tubo B equivale ao branco ou teste sem o microrganismo. A turvação observada no início da série (tubos 1 e 2) decorre do fato que o OE de canela não solubiliza totalmente nas concentrações >1000 µg/mL.



Figura 2 – Leitura visual da atividade antimicrobiana pela técnica de marodiluição em tubos do óleo essencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente *Candida albicans* ATCC 10231. A CIM foi observada no tubo 6, equivalente a 125 µg/mL, comparado com o controle a inibição foi de 99%. Nos tubos 1 a 8 concentrações de 4000 - 31,2 µg/mL. Tubo controle (C) mostra o crescimento da levedura sem OE e o tubo B equivale ao branco ou teste sem o microrganismo.



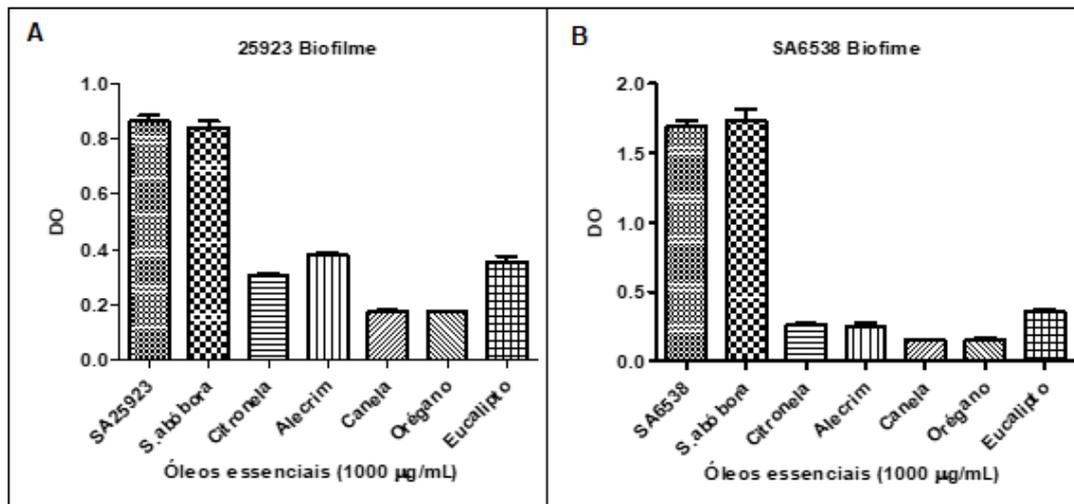
O EAB dos OEs, na concentração de 1000 µg/mL, frente SA25923 e SA6538, foi calculado com base no biofilme produzido pelos microrganismos testes, sendo esses equivalentes a 100% e o EAB foi a diferença. Os resultados da análise estatística, ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$) entre a leitura das DO estão demonstrados juntamente na Tabela 2.

Para SA25923 (Tabela 2 e Figura 3A), o óleo de alecrim teve EAB e foi semelhante ao óleo de eucalipto. O óleo de citronela teve efeito EAB e foi semelhante ao eucalipto. O óleo de canela e orégano apresentaram EAB e foram significativamente maiores que os demais óleos inibindo 80% do biofilme. O óleo de eucalipto apresentou EAB e foi semelhante ao alecrim e citronela. O óleo de semente de abóbora não apresentou EAB.

Tabela 2 - Resultado da análise estatística das médias das leituras das densidades ópticas (DO) obtida da produção do biofilme (P) em percentual de produção, sendo a diferença a inibição (I) formado pelos SA25923 e SA6538 na presença de 1000 µg/mL dos óleos essenciais em estudo. Números iguais não significante, números diferentes p<0,05.

Óleos essenciais	SA25923			SA6538		
	DO	P (%)	I (%)	DO	P (%)	I (%)
Microrganismo	0,864 ¹	100	0	1,689 ¹	100	0
S. abóbora	0,841 ¹	100	0	1,735 ¹	100	0
Citronela	0,304 ^{2,3}	35	65	0,263 ²	16	84
Alecrim	0,378 ^{2,4}	44	56	0,252 ²	15	85
Canela	0,176 ^{2,5}	20	80	0,154 ²	9	91
Orégano	0,173 ^{2,5}	20	80	0,161 ²	10	90
Eucalipto	0,356 ^{2,3,4}	41	59	0,361 ²	21	79

Figura 3 – Comparação com o controle entre os biofilmes produzidos pelos SA23923 (A) e SA6538 (B) frente aos óleos essenciais em estudo.



Para SA6538 (Tabela 2 e Figura 3B) o óleo de semente de abóbora não apresentou EAB. Os demais OEs apresentaram e não houve diferença significativa entre eles sendo que a inibição do biofilme variou de 9 a 21%. O óleo de citronela mostrou EAB inibindo 65% do biofilme produzido por SA25923 e 84% SA6538. EAB para citronela frente *S. aureus* foi relatado por Catanoze et al (2018)²⁶, observados com soluções de OE de citronela testadas em materiais protéticos.

No presente trabalho os OEs com melhor AA foram os de orégano e canela. O OE de orégano possui AA, antiviral e antifúngica, sendo que esse OE apresenta misturas muito complexas de compostos, em que os constituintes principais são os terpenos e os compostos mais comumente encontrados são o timol e o carvacrol²⁷. O principal componente ativo do OE da canela é o cinamaldeído que tem na sua composição química

compostos terpenóides que atuam contra fungos e bactérias, Gram-positivas e Gram-negativas, e tem sido amplamente utilizado devido suas atividades biológicas e farmacológicas, como antimicrobiano, antioxidante, antidiabético, dentre outras ²⁸.

4 CONCLUSÃO

Os óleos essenciais estudados apresentaram atividade antimicrobiana e amplo espectro de ação, porém com diferentes intensidades. Os óleos de citronela, alecrim e eucalipto apresentam AA moderada e os óleos de canela e orégano apresentaram uma forte AA. Em relação aos microrganismos os OEs estudados apresentaram forte atividade antifúngica, moderada atividade antibacteriana para bactérias Gram-positivas, entretanto, para bactérias Gram-negativas a atividade antibacterina foi baixa ou fraca. O óleo de semente de abóbora apresentou baixa AA e não apresentou EAB. Os demais OEs apresentaram EAB sendo maior para os óleos de canela e orégano.

Muitos fatores podem alterar o teor dos princípios ativos presentes nos OEs. Assim, muitas variáveis são geralmente observadas e relatadas em diferentes trabalhos. Dessa forma, novos estudos são importantes para se conhecer melhor suas propriedades, efeitos biológicos, bem como seu espectro de ação.

REFERÊNCIAS

1. Nascimento, A., & Prade, A. C. K. (2020). Aromaterapia: o poder das plantas e dos óleos essenciais. *Recife: Fiocruz-PE*.
2. da Rocha, R. R. R., de Moraes Ferreira, W., & Gonçalves, K. A. M. (2022). Benefícios proporcionados pelo uso de óleos essenciais sobre o sistema nervoso central e sua atividade antimicrobiana: uma revisão literária. *Brazilian Journal of Development*, 8(1), 229-236.
3. De Almeida, J. C., De Almeida, P. P., & Gherardi, S. R. M. (2020). Potencial antimicrobiano de óleos essenciais: uma revisão de literatura de 2005 a 2018. *Nutr. Time*, 17(01), 8623-8633.
4. Nabavi, S. F., Di Lorenzo, A., Izadi, M., Sobarzo-Sánchez, E., Daglia, M., & Nabavi, S. M. (2015). Antibacterial effects of cinnamon: From farm to food, cosmetic and pharmaceutical industries. *Nutrients*, 7(9), 7729-7748.
5. Andrade, M. A., Cardoso, M. D. G., Batista, L. R., Mallet, A. C. T., & Machado, S. M. F. (2012). Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. *Revista Ciência Agronômica*, 43, 399-408.
6. de Medeiros, M. A., de Araújo Cruz, J. H., de Oliveira, H. M. B. F., Guênes, G. M. T., Alves, M. A. S. G., & de Oliveira Filho, A. A. (2021). *Rosmarinus officinalis* L.: propriedades farmacológicas relacionadas à Odontologia. *Archives of Health Investigation*, 10(1), 24-30.
7. Porte, A., & Godoy, R. L. D. O. (2001). Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 19(2).
8. Carvalho, K. B. D., Oliveira, M. D. A. N., & Cavalcanti, D. D. S. P. (2021). As propriedades do óleo essencial de *Origanum vulgare* e seus benefícios terapêuticos. *Saúde & Ciência em Ação*, 7(1), 46-63.
9. Araujo, M. M. D., & Longo, P. L. (2016). Teste da ação antibacteriana in vitro de óleo essencial comercial de *Origanum vulgare* (orégano) diante das cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. *Arquivos do Instituto Biológico*, 83.
10. Dhakad, A. K., Pandey, V. V., Beg, S., Rawat, J. M., & Singh, A. (2018). Biological, medicinal, and toxicological significance of Eucalyptus leaf essential oil: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(3), 833-848.
11. Mota, V. D. S., Turrini, R. N. T., & Poveda, V. D. B. (2015). Atividade antimicrobiana do óleo de *Eucalyptus globulus*, xilitol e papaína: estudo piloto. *Revista da Escola de Enfermagem da USP*, 49, 0216-0220.
12. Perez Gutierrez, R. M. (2016). Review of *Cucurbita pepo* (pumpkin) its phytochemistry and pharmacology. *Med chem*, 6(1), 12-21.

13. Damiano, R., Cai, T., Fornara, P., Franzese, C. A., Leonardi, R., & Mirone, V. (2016). The role of *Cucurbita pepo* in the management of patients affected by lower urinary tract symptoms due to benign prostatic hyperplasia: A narrative review. *Archivio Italiano di Urologia e Andrologia*, 88(2), 136-143.
14. da Silva Santos, C. H., Piccoli, R. H., & Tebaldi, V. M. R. (2017). Atividade antimicrobiana de óleos essenciais e compostos isolados frente aos agentes patogênicos de origem clínica e alimentar. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 76, 1-8.
15. NeuHannig, C., dos Prazeres Régis, C., Soika, J. H., de Souza Silva, L. A., Quintanilha, V. A. B., Bussolotto, L. T., ... & Bello, S. R. B. (2019). Disbiose Intestinal: Correlação com doenças crônicas da atualidade e intervenção nutricional. *Research, Society and Development*, 8(6), e25861054-e25861054.
16. CLSI. 2015. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 20th ed. *CLSI supplement M100*. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
17. Stepanović, S., Vuković, D., Dakić, I., Savić, B., & Švabić-Vlahović, M. (2000). A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of microbiological methods*, 40(2), 175-179.
18. Bona, E. A. M. D., Pinto, F. G. D. S., Fruet, T. K., Jorge, T. C. M., & Moura, A. C. D. (2014). Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. *Arquivos do Instituto Biológico*, 81, 218-225.
19. Aligiannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S., & Chinou, I. B. (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(9), 4168-4170.
20. Cutrim, E. S. M., Teles, A. M., Mouchrek, A. N., Mouchrek Filho, V. E., & Everton, G. O. (2019). Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (Alecrim). *Revista Virtual de Química*, 11(1), 60-81.
21. Man, A., Santacroce, L., Jacob, R., Mare, A., & Man, L. (2019). Antimicrobial activity of six essential oils against a group of human pathogens: A comparative study. *Pathogens*, 8(1), 15.
22. Contrucci, B. A., Silva, R., Junior, R. A., & Kozusny-Andreani, D. I. (2019). Efeito de óleos essenciais sobre bactérias gram-negativas isoladas de alimentos. *Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde*, 23(3), 180-184.
23. Ferrão, S. K., Butzge, J., Mezzomo, L., Calil, L. N., Apel, M., Mezzari, A., & Limberger, R. P. (2020). Atividade antifúngica de óleos essenciais frente a *Candida* spp. *Brazilian Journal of Health Review*, 3(1), 100-113.
24. Baiotto, C. S., COLET, C. D. F., & da Silva, J. A. G. (2021). Uso de óleos essenciais antifúngicos sobre *Candida* spp: Uma Revisão da Literatura. *Salão do Conhecimento*, 7(7).

25. Dubey, A., Mishra, N., Singh, N. (2010). Antimicrobial activity of some selected vegetables. *International Journal of applied biology and pharmaceutical technology*, 1 (3), 994-999.
26. Catanoze, I. A., Cunha, B. G., Duque, C., Caiaffa, K. S., Massunari, L., Dos Santos, D. M., ... & Maria Guiotti, A. (2018). Citotoxicidade e efeito antimicrobiano do óleo de citronela e de enxaguatórios sobre biofilme em materiais protéticos. *Archives of Health Investigation*, 7.
27. Leyva-López, N., Gutiérrez-Grijalva, E. P., Vazquez-Olivo, G., & Heredia, J. B. (2017). Essential oils of oregano: Biological activity beyond their antimicrobial properties. *Molecules*, 22(6), 989.
28. Silva, C. S., Figueiredo, S., De Oliveira, P. V., de Silva, W. F., Saminez, R. M. D., Rodrigues, J. F. S., ... & Grisotto, M. A. G. (2018). Óleo essencial da Canela (Cinamaldeído) e suas aplicações biológicas. *Revista De Investigação Biomédica*, 9(2), 192-197.