

Atividade inibitória de óleos fixos e essenciais no crescimento de isolados de *Salmonella sp.* e *Salmonella typhimurium*.

Rodrigo Fernandes Castanha.¹; Zayame V. Pinto¹; Lilia Aparecida S. de Moraes ¹; Liliana P. V. de Mattos.^{1,2}Francisco Célio M. Chaves³; Sérgio H. Mattos⁴.

¹Embrapa Meio Ambiente, CP 69, 13820000, Jaguariúna-SP; ²UNESP/FCA, CEP 18618000, Botucatu-SP.; ³Embrapa Amazônia Ocidental, CEP 69011-970, Manaus-AM; ⁴Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Fitotecnia, CEP 60356-000, Fortaleza-CE., rodrigo@cnpma.embrapa.br, zvpinto@yahoo.com.br, lilia@cnpma.embrapa.br, lilianapatriciav@yahoo.com.br, célio.chaves@cpaa.embrapa.br, horta@ufc.br.

RESUMO

Neste trabalho, foi avaliado a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Cymbopogon wiinterianus*, *Pogostemon cablin*, *Ocimum basilicum*, *Ocimum gratissimum*, *Mentha arvensis*, *Eucalyptus* spp., *Ocimum basilicum* var. Maria bonita, *Romarinus officinalis*, *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citratus*, *Zingiber officinale*, *Azadirachta indica*, *Allium sativum* contra *Salmonella sp.*, e óleos de *Pogostemon cablin*, *Ocimum basilicum*, *Citrus aurantifolia*, *Mentha arvensis*, *Piper aduncum*, *Ocimum basilicum* var. Maria Bonita, *Lippia sp.*, *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citratus*, *Zingiber officinale* e *Ocimum gratissimum* para *Salmonella typhimurium*. Os diâmetros da zona de inibição do crescimento celular foram determinados utilizando-se o método de difusão em ágar. Os óleos avaliados podem ser classificados como muito ativos para o controle do crescimento celular de *Salmonella sp.*, exceto o óleo de alho, contudo não houve inibição do crescimento celular de *Salmonella typhimurium* para todos os óleos testados. Estes óleos constituem uma alternativa importante para o controle de linhagens de *Salmonella sp.*, contudo existem variações de suscetibilidade entre diferentes sorovares.

Palavras-chave: *Salmonella typhimurium*, *Salmonella sp.*, atividade antibacteriana, plantas medicinais.

ABSTRACT

Inhibitory activity of fixed and essential oils on growth of *Salmonella sp.* and *Salmonella typhimurium* isolates.

In this study, we evaluated the antimicrobial activity of essential oils from *Cymbopogon wiinterianus*, *Pogostemon cablin*, *Ocimum basilicum*, *Ocimum gratissimum*, *Mentha arvensis* and *Eucalyptus* spp. *Ocimum basilicum* var. Maria bonita, *Romarinus officinalis*, *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citratus*, *Zingiber officinale*, *Azadirachta indica*, *Allium sativum* against *Salmonella sp.* and *Pogostemon cablin*, *Ocimum basilicum*, *Citrus aurantifolia*, *Mentha arvensis*, *Piper aduncum*, *Ocimum basilicum* var. Maria bonita, *Lippia sp.*, *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Zingiber officinale* oils against *Salmonella typhimurium*. The zone diameters of inhibition of cell growth were determined using the agar diffusion method. The oils can be classified as very active in controlling cell growth of *Salmonella sp.*, except the garlic oil, however there was no inhibition of cell growth of *Salmonella typhimurium* for all oils tested. These oils are a valuable alternative to control strains of *Salmonella*, although there are variations among different serovars.

Keywords: *Salmonella typhimurium*, *Salmonella sp.*, antimicrobial activity, medicinal plants.

Muitos dos microrganismos, que causam danos à saúde humana, apresentam resistência às drogas devido ao uso inadequado de antibióticos. Assim, há uma necessidade para a descoberta de novas substâncias provenientes de fontes naturais, incluindo as plantas (SARBORATTO et al., 2004).

Este fato ocorre com a *Salmonella* spp., uma bactéria gram-negativa que causa gastroenterite. A salmonelose é uma zoonose de importância mundial e se constitui em importante barreira ao comércio internacional de alimentos (BUTAYE et al., 2003). Estas enterobactérias estão amplamente distribuídas na natureza e ainda estão presentes em todas as espécies animais, especialmente nas aves, sendo patogênica para humanos e muitas espécies de animais (VARNAM; EVANS, 1991; HOLT et al., 1994). As espécies mais estudadas são *S. enteritidis* e *S. typhimurium*.

Uma forma promissora para o seu controle é o uso de óleos essenciais, os quais são provenientes do metabolismo secundário de plantas medicinais. Os óleos produzem numerosos compostos que podem ser utilizados no seu controle por meio de ação biostática.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito inibitório *in vitro* dos óleos essenciais sobre isolados de *Salmonella* sp. e *Salmonella typhimurium*.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o experimento foram preparadas placas contendo meio de batata-dextrose-ágar (BDA), estas foram inoculadas com 100µL da suspensão de 10^8 UFC/ml dos isolados de *Salmonella* sp. e *Salmonella typhimurium*, aguardou-se até que a superfície estivesse seca para realizar a escavação do meio, esta por sua vez foi feita com o auxílio de um cilindro de cobre de 7mm de diâmetro. Foram realizadas quatro orifícios em cada placa, e foram adicionadas uma alíquota de 100 µL dos respectivos dos óleos: citronela (*C. winterianus*), patchouli (*P. cablin*), manjerição (*O. basilicum*), alfavaca (*O. gratissimum*), menta (*M. arvensis*), eucalipto (*Eucalyptus* spp.), maria bonita (*O. basilicum* var. Maria bonita), alecrim (*. officinalis*), alecrim-pimenta (*L. sidoides*), capim limão (*C. citratus*), gengibre (*Z. officinale*) e alho (*A. sativum*) para *Salmonella* sp. proveniente da coleção da Faculdade Metropolitanas Unidas/ SP, e os respectivos óleos de patchouli, manjerição, limão Tahiti (*C. aurantifolia*), menta (*M. arvensis*), pimenta-de-macaco (*P. aduncum*), maria bonita, salvia-de-Marajó (*Lippia* sp.), alecrim-pimenta, capim-limão (*C. citratus*), gengibre e alfavaca para *Salmonella typhimurium* proveniente da coleção da Embrapa Meio Ambiente/SP, além do controle realizado com hipoclorito a 1%. As concentrações utilizadas para os diferentes óleos seguiram a seguinte ordem (0, 1, 10, 100, 1000, 10.000 e 100.000 ppm). Incubou-se as placas a $35\pm 2^\circ\text{C}$ até o crescimento e posterior aparecimento de halos, todos os testes foram realizados em triplicata. Os resultados foram expressos em termos das médias do diâmetro da zona de inibição e classificados de acordo com Alves et al. (2000): < 9 mm, inativo; 9-12 mm, parcialmente ativo; 12-18 mm, ativo; > 18 mm, muito ativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados da *Salmonella* sp., todos os óleos avaliados podem ser classificados como muito ativos (halo > 18 mm) para o controle do seu crescimento celular

na concentração de 100.000 ppm, exceto o óleo de alho que obteve atividade parcialmente ativa (halo entre 9-12 mm) e os olhos de citronela e manjeriço classificados como ativos (halo entre 12 mm -18 mm) (Figura 1). Resultados semelhantes foram conseguidos em estudo realizado por Nakamura et al. (1999) em que demonstraram a atividade antimicrobiana do óleo de alfavaca (*O. gratissimum*) contra *Salmonella enteritidis*. Porém, Trajano et al. (2009) ao pesquisarem sobre propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos, verificaram que os óleos de alecrim (*R. officinalis*) e manjeriço (*O. basilicum*) não tiveram efeito inibitório contra *S. aureus*, *S. enterica* e *S. mercences*.

Os óleos de gengibre (*Z. officinale*) e menta (*M. arvensis*) foram os que se destacaram no controle de *Salmonella* sp., obtendo resultado idêntico (30 mm) e próximo (29 mm) ao hipoclorito (30mm), respectivamente (Figura 1). Wannissorn et al. (2005) verificaram também que o óleo de *M. arvensis* var. *piperacens* foi o mais efetivo no controle de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157, *Campylobacter jejunii* e *Clostridium perferingens* de 32 óleos essenciais analisados. E, Surech et al. (2004) relataram atividade moderada do extrato de gengibre no combate a *S. enteritidis*.

Neste teste, quando utilizou-se a *S. typhimurium*, todos os óleos essenciais testados não inibiram o seu crescimento, não havendo formação de halo de inibição em nenhuma das concentrações utilizadas. O mesmo resultado foi obtido em estudo realizado por Van Duijkeren et al. (2003) em que comparou a suscetibilidade de sorovares de *Salmonella* isolados entre 1984-1989 com isolados do período entre 1996-2001 indicando que o sorovar *Typhimurium* foi o mais resistente, ou seja, não obteve controle com os óleos estudados. Já, Sherer (2008), conseguiu uma inibição moderada da *S. typhimurium* pelo óleo de citronela, o qual não foi utilizado nestes ensaios. E, Dupont et al. (2006) em seus estudos conseguiram baixa atividade antimicrobiana do extrato aquoso de *Eucalyptus olida* e *E. staigerana* contra *S. enteritidis* e *S. typhimurium*.

Logo, este estudo permitiu evidenciar a especificidade da atividade de alguns óleos sobre determinadas linhagens de *Salmonella*, indicando que o uso de óleos essenciais para o controle de *Salmonella* deve ser realizado com cautela. Além disso, mais estudos devem ser feitos para estabelecer a relação de quais óleos e em quais concentrações controlam cada sorovar de *Salmonella* e assim poder utilizá-los com maior segurança e eficiência.

Referências

- ALVES, T.M.A.; SILVA, A.F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T.S.M.; SMÂNIA, E.F.; SMÂNIA, JR.A.; ZANI, C.L. 2000. Biological screening of Brazilian medicinal plants. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 95:367-373.
- BUTAYE, P.; DEVRIESE, L.A.; HAESBROUCK, F. 2003. Antimicrobial growth promoters used in animal feed: effects of less well know antibiotics on Grampositive bacteria. Clinical Microbiology Reviews, v.16, n.2, p.175-188..
- DUPONTA, S.; CAFFINB, N.; BHANDARIB, B.; DYKES, G.A. 2006. In vitro antibacterial activity of Australian native herb extracts against food-related bacteria. Food Control v. 17, p. 929-932.

HOLT, J.G.; K RIEG, N.R., SNEATH, P.H.A.; W ILLIAMS, S.T. 1994. *Berger Manual of determinative bacteriology*. 9.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 787 p.

NAKAMURA, C.V.; UEDA-NAKAMURA, T.; BANDO, E.; MELO, A. F. N.; CORTEZ, D.A.G.; DIAS FILHO, B.P.. 1999. Antibacterial activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 94, n. 5., pp.675-678.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A.L.M.; DELARMELENA, C.; GLYN, M.F.; DUARTE, M.C.T. REHDER, V.L.G. 2004. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. Braz. J. Microbiol., vol.35, n.4, pp. 275-280.

SCHERER, R. 2008. Extratos vegetais: atividade biológica, composição e aplicação. Campinas UNICAMP – FEA. 147p. (Tese de Doutorado).

SURESH, T.; HATHA, A.M.; SRINIVASAN, D.; SRINIVASAN, S.; LAKSHMANAPERUMALSAMY, P. 2004. *Salmonella* cross contamination in retail chicken outlets and the efficacy of spice extracts on *Salmonella enteritidis* growth inhibition on various surfaces. Microbes Environ., 19(4), p. 152-157.

TRAJANO, V.N.; LIMA, E.O.; SOUZA, E. L.; TRAVASSOS, A.E.R. 2009. Antibacterial property of spice essential oils on food contaminating bacteria. Ciênc. Tecnol. Aliment. vol.29 no.3, pp.542-545.

VAN DUIJKEREN, E.; WANNET, W.J.B.; HOUWERS, D.J.; VAN PELT, W. 2003. Antimicrobial susceptibilities of *Salmonella* strains isolated from humans, cattle, pigs and chickens in the Netherlands from 1984 to 2001. Journal of Clinical Microbiology, v.41, n.8, p.3574–3578.

VARNAM, A.H. & EVANS M. G. 1991. *Foodborne pathogens: an illustrated text*. St Louis: Moby-Year Book. p.209-234.

WANNISSORN, B. JARIKASEM, S.; SIRIWANGCHAI, T.; THUBTHIMTHED, S. 2005. Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. Fitoterapia. v. 76, p. 233-236.



Tabela 1. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais frente a *Salmonella* sp., mostrado como médias de triplicatas das zonas de inibição de crescimento. [Antimicrobial activity of essential against *Salmonella* sp., showed as mean of triplicate of zones of growth inhibition (mm)]. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, 2010.

Tratamentos	<i>Salmonella</i> sp.
<i>Cymbopogon winterianus</i>	15
<i>Pogostemon cablin</i>	23
<i>Ocimum basilicum</i>	12
<i>Ocimum gratissimum</i>	28
<i>Mentha arvensis</i>	29
<i>Eucaliptus</i> ssp.	24
<i>Ocimum basilicum</i> var. Maria bonita	26
<i>Romarinis officinalis</i>	27
<i>Lippia sidoides</i>	25
<i>Cymbopogon citratus</i>	18
<i>Zingiber officinale</i>	30
<i>Allium sativum</i>	10
Hipoclorito 1%	30

