

## ARTIGO ORIGINAL

### Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lavandula* híbrida grosso associado à ampicilina contra cepas de *Staphylococcus aureus*

*Antibacterial activity of thick hybrid Lavanula essential oil associated with ampicillin against Staphylococcus aureus strains*

**Maria Tays Pereira Santana**

Universidade Federal de Campina Grande, E-mail: [taayssantana@gmail.com](mailto:taayssantana@gmail.com)

**Lucas Linhares Gomes**

Universidade Federal de Campina Grande, E-mail: [lucaslinharesg@hotmail.com](mailto:lucaslinharesg@hotmail.com)

**Thallita Alves dos Santos**

Universidade Federal de Campina Grande, E-mail: [thallita\\_28@hotmail.com](mailto:thallita_28@hotmail.com)

**Aleson Pereira de Sousa**

Universidade Federal de Campina Grande, E-mail: [aleson\\_155@hotmail.com](mailto:aleson_155@hotmail.com)

**Maria Angélica Satyro Gomes Alves**

Universidade Federal de Campina Grande, E-mail: [angelicasatyro@hotmail.com](mailto:angelicasatyro@hotmail.com)

**Abrahão Alves Oliveira Filho**

Universidade Federal de Campina Grande, E-mail: [abrahao.farm@gmail.com](mailto:abrahao.farm@gmail.com)

**Resumo:** Os antimicrobianos convencionais são frequentemente prescritos no tratamento de infecções bacterianas, localizadas como na cavidade oral e sistêmicas, porém tem-se uma preocupação quanto ao seu uso rotineiro devido a resistência bacteriana e efeitos colaterais no organismo, fazendo assim necessário a busca por novas vias de tratamento. Esse estudo tem por objetivo avaliar a atividade antibacteriana do óleo essencial da *Lavandula* Híbrida Grosso quando associado ao antimicrobiano ampicilina contra cepas de *S.aureus*. O caráter antibacteriano do óleo essencial da *Lavandula* Híbrida Grosso foi quantificado e qualificado, pela técnica de microdiluição em caldo para a obtenção da CIM (Concentração Inibitória Mínima). Em seguida realizou-se a associação do óleo essencial com o antimicrobiano ampicilina (10 µg/mL). A CIM (Concentração Inibitória Mínima) foi de 128 µg/mL para a cepa em análise. Quanto a associação, foi observado um efeito sinérgico ao se associar a ampicilina com o óleo essencial da *Lavandula* Híbrida Grosso. Portanto, observou-se um efeito sinérgico ao se associar o óleo essencial em estudo com o antimicrobiano ampicilina.

**Palavras-chaves:** Antimicrobianos. Fitoterapia. Microbiologia.

**Abstract:** Conventional antimicrobials are often prescribed in the treatment of bacterial infections, located as in the oral cavity and systemic, but there is concern about their routine use due to bacterial resistance and side effects in the body, making it necessary to search for new ways of treatment. This study aims to evaluate the antibacterial activity of the essential oil of *Lavandula* Híbrida Grosso when combined with the antimicrobial ampicillin against *S. aureus* strains. The antibacterial character of the essential oil of *Lavandula* Híbrida Grosso was quantified and qualified by the broth microdilution technique to obtain MIC (Minimum Inhibitory Concentration). Then, the essential oil was combined with the antimicrobial ampicillin (10 µg / mL). The MIC (Minimum Inhibitory Concentration) was 128 µg / mL for the strain under analysis. As for the association, a synergistic effect was observed when associating ampicillin with the essential oil of *Lavandula* Hybrid Thick. Therefore, a synergistic effect was observed when associating the essential oil under study with the antimicrobial ampicillin.

**Keywords:** Antimicrobials. Phytotherapy. Microbiology.

Recebido em: 12/05/2020

Aprovado em: 20/07/2020



## INTRODUÇÃO

Os antimicrobianos sintéticos consistem em um das principais drogas utilizadas no tratamento de infecções bacterianas, entretanto a utilização feita de forma indiscriminada e por um longo período de tempo consiste um dos principais fatores responsável pelo surgimento de bactérias multirresistentes (VINCENT et al., 2009).

Associado a isso, há uma diminuição da disponibilidade de novos antimicrobianos no setor comercial, devido ao rápido surgimento de cepas resistentes às novas drogas, o que provavelmente desestimula mais investimentos (ROSENTHAL et al., 2012), tornando-se necessário vias alternativas no tratamento das doenças bacterianas, entrando nesse contexto a fitoterapia.

A prática do cultivo, comércio e uso de plantas medicinais como escolha no tratamento e cura era considerada práticas usadas apenas pelas as populações mais carentes, porém hoje tem aumentado em todas as classes sociais das mais diversas regiões do mundo, no Brasil, 80% da população têm como a principal fonte de recurso terapêutico, as plantas medicinais (MACIEL et al., 2002).

Dentre os produtos naturais mais estudados pela fitoterapia destacam-se os óleos essenciais, compostos provenientes do metabolismo secundários das plantas, apresentam inúmeras propriedades farmacológicas confirmadas tais como: antibacterianas, antifúngicas, antivirais, antiparasitárias, antitoxigênicas, antissépticas, anestésicas, anticancerígenas e antioxidantes além de serem importantes fontes de novos fármacos (SANTOS et al., 2015; MAURYA et al., 2014; FRIKECHE et al., 2015; FERNANDES JÚNIOR et al., 2014; FERNANDES, 2017).

A *Lavandula* Híbrida, também conhecida como Lavandin é uma espécie derivada da união da *Lavandula angustifolia* Miller com a *Lavandula latifolia* Linn, apresentando as variedades Abrialli, Grosso, Provence, Impress purple, e Super. Dentre as quais, a espécie que mais apresentou capacidade antimicrobiana foi a variedade Grosso. A *Lavandula* Híbrida, é caracterizada por um conteúdo elevado de linalol, acetato de linalol, borneol, cânfora,  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -pineno e 1,8-cineol no seu óleo essencial (UPSON et al., 2004; RODRIGUEZ FLORES et al., 2014)

Com base no exposto anteriormente, este estudo tem como objetivo avaliar a atividade antibacteriana do óleo essencial da *Lavandula* Híbrida Grosso quando associado ao antimicrobiano ampicilina contra cepas de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*).

## MATERIAL E MÉTODO

- Substâncias-teste

O óleo essencial de *Lavandula* Híbrido Grosso foi adquirido da Indústria Via Aroma® (Porto Alegre - RS). Para a realização dos ensaios farmacológicos, a substância foi solubilizada em DMSO e diluída em

água destilada. A concentração de DMSO (dimetilsulfóxido) utilizada foi inferior a 0,1% v/v.

- Antimicrobiano sintético

Foi selecionado no presente estudo o antibiótico ampicilina (10 µg/mL). A concentração contida no disco de antibiótico é uma concentração padrão determinada pelo CLSI. (CLINICAL AND LABORATORY STANDARD INSTITUTE, 2003). O estudo de observação de sensibilidade da cepa bacteriana frente ao antibiótico foi realizado através da técnica de difusão em meio sólido utilizando-se discos de papel de filtro (Newprov®) (VANDEPITTE et al., 1994).

- Espécie Bacteriana e Meio de cultura

O microorganismo utilizado foi a cepa clínica de *Staphylococcus aureus* (SA 101), proveniente do Laboratório de Microbiologia da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande.

A cepa foi mantida em meio Ágar Muller Hinton (AMH) a uma temperatura de 4 °C, sendo utilizado para os ensaios repiques de 24 horas em AMH incubados a 35 °C. No estudo da atividade antimicrobiana foi utilizado um inóculo bacteriano de aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL padronizado de acordo com a turbidez do tubo 0,5 da escala de McFarland (CLEELAND; SQUIRES, 1991; HADACEK; GREGER, 2000).

- Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima do óleo foi determinada pela técnica de microdiluição em caldo. (CLEELAND; SQUIRES, 1991; HADACEK; GREGER, 2000). Foi utilizada uma placa de 96 orifícios estéreis e com tampa. Em cada orifício da placa, foi adicionado 100 µL do meio líquido Muller Hinton (MH) duplamente concentrado. Em seguida, 100 µL da emulsão do óleo na concentração inicial de 2048 µg/mL (também duplamente concentrado), foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. E por meio de uma diluição seriada em razão de dois, foram obtidas as concentrações de 1024, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8 e 4 µg/mL, de modo que na primeira linha da placa encontra-se a maior concentração e na última, a menor concentração. Por fim, foi adicionado 10 µL do inóculo de aproximadamente  $1-5 \times 10^8$  UFC/mL da espécie bacteriana nas cavidades.

Paralelamente, foi realizado o mesmo ensaio com o antibacteriano cloranfenicol, o controle positivo. Um controle de microorganismo foi realizado colocando-se nas cavidades 100 µL do mesmo MH duplamente concentrado, 100 µL de água destilada estéril e 10 µL do inóculo de cada espécie. Para verificar a ausência de interferência no resultado pelos solventes utilizados na preparação da emulsão, no caso o DMSO, foi feito um controle no qual foi colocado

nas cavidades 100 µL do caldo duplamente concentrado, 100 µL de DMSO e 10µL da suspensão bacteriana. Um controle de esterilidade do meio também foi realizado, onde foi colocado 200 µL do MH em um orifício sem a suspensão das bactérias.

A placa foi assepticamente fechada e incubada a 35°C por 24hs em seguida foi realizada a leitura da CIM para o monoterpene e o antibacteriano a qual foi definida como a menor concentração capaz de inibir visualmente o crescimento bacteriano verificado nos orifícios quando comparado com o crescimento controle.

- Estudo da interferência do óleo essencial sobre o efeito de antimicrobianos sintético

O estudo da interferência do óleo essencial sobre a efetividade dos antimicrobianos foi realizado através da técnica de difusão em meio sólido utilizando disco de ampicilina. O disco contendo o antimicrobiano na sua respectiva concentração foi embebido com 20µL da CIM do óleo essencial, e em seguida colocado em placa de Petri estéril contendo ágar Muller-Hinton inoculado com 1mL da suspensão bacteriana. Após incubação das placas a 37°C por 48 horas, foi observada a interferência da CIM óleo essencial sobre o efeito do antimicrobiano sobre a cepa bacteriana ensaiada. Foi considerado como efeito sinérgico, quando o halo de inibição do crescimento microbiano formado pela associação teve um diâmetro  $\geq$  que 2mm, quando comparado com o halo de inibição formado pela ação do antimicrobiano isoladamente. Quando a formação de halo de inibição decorrente da associação fosse de um diâmetro menor daquele desenvolvido pela ação isolada do antimicrobiano, era considerado efeito antagônico. Foi considerado como efeito indiferente, quando o de halo de inibição consequente à associação tivesse um diâmetro igual

àquele consequente da aplicação isolada do antimicrobiano (CLEELAND; SQUIRES, 1991). Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos últimos anos, o interesse pelos medicamentos de origem natural cresceu muito sendo acompanhado por um elevado investimento no setor da pesquisa, mostrando que a cultura popular deve ser valorizada e mantida, diante de todo o acervo de conhecimento sobre os tratamentos de saúde praticado pelos povos de influências indígena, afro-brasileira, oriental, além dos sertanejos e ribeirinhos (RATES, 2001; LIMA; DIMENSTEIN, 2006; OLIVEIRA, 2005).

Mesmo não sendo bem visto pela indústria de perfumes devido a sua grande quantidade de 1-8 cineol e de cânfora, o óleo essencial de *Lavandula* Híbrida Grosso tornou-se atrativo para a indústria farmacêutica por apresentar capacidade de agir como um componente antimicrobiano visto em estudos sua ação contra microorganismos tais como bactérias gram positivo, a exemplo a *S. aureus* (TARDUGNO et al., 2019).

A análise dos resultados mostram que a CIM (Concentração Inibitória Mínima ) foi de 128 µg/mL para a cepa analisada. Em relação a associação do óleo essencial de *Lavandula* Híbrida Grosso com o antibiótico ampicilina, mostrou um aumento do tamanho do halo de inibição do antimicrobiano, sendo esse resultado obtido a partir da análise comparativa entre o halo de inibição na presença do antibiótico com halo de inibição na presença do antibiótico associado com o óleo essencial.

**Tabela 1. .** Interferência do óleo essencial de *Lanvandula* Híbrido Grosso com o antibiótico sintético.

Antibiótico	Microorganismo
Ampicilina	<i>Staphylococcus aureus</i> SA 101
HIATB	14 mm
HIATB + OE	18 mm †

Legenda: HIATB: halo de inibição na presença do antibiótico. OE: óleo essencial. Efeito sinérgico (†); efeito antagônico (‡); efeito indiferente (\*).

No presente trabalho, observou-se que o óleo essencial de *Lavandula* Híbrida Grosso quando associado ao antimicrobiano ampicilina apresentou uma excelente ação antibacteriana, um efeito sinérgico ao observar o aumento maior que 2mm do halo de inibição, de acordo com os critérios estabelecidos por Cleeland ; Squires (1991).

É comum, relatos de indivíduos que afirmam fazer associações de plantas medicinais com medicamentos sintéticos sem nenhum tipo de orientação profissional. Esta forma de automedicação pode atuar inibindo ou intensificando o efeito terapêutico dos medicamentos sintéticos, sendo assim associação de plantas medicinais com outros medicamentos merece ser tratada com cautela devido à

possibilidade de interferência no tratamento de doenças (NASCIMENTO., et al 2000).

Desse modo, é frequente a realização de estudos voltados a análise de associações de substâncias naturais com medicamentos convencionais, como por exemplo, o estudo de Oliveira et al. (2006) o qual analisou quatro óleos essenciais de diferentes espécies vegetais associado com ampicilina contra *S. aureus*, nessa análise observou-se que os óleos *Lippia sidoides*, *Plectranthus amboinicus*, *Conyza bonariensis* apresentaram efeito sinérgico, enquanto que óleo *Eucalyptus citriodora* mostrou um efeito antagônico, demonstrando assim que a associação de produtos naturais com antibióticos sintéticos consiste em uma importante opção terapêutica no combate a resistência de bactérias do gênero *Staphylococcus*.

Ainda no estudo de Oliveira et al. (2006) foi analisada a associação da ampicilina com os óleos essenciais frente a três outras espécies bacterianas, o qual demonstrou que os óleos *Lippia sidoides*, *Plectranthus amboinicus*, *Conyza bonariensis* e *Eucalyptus citriodora* teve efeito sinérgico contra *S. epidermidis* e efeito indiferente frente as bactérias *P. aeruginosa* e *E. coli*.

## CONCLUSÃO

De acordo com os dados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que o óleo essencial da *Lavandula* Híbrida Grosso, se mostrou como um promissor agente terapêutico contra infecções bacterianas quando associado ao antimicrobiano sintético, contribuindo de forma positiva para a indústria farmacêutica. Entretanto, é necessário mais estudos que possibilitem o uso dessa forma de tratamento baseado em um padrão de eficácia e segurança.

## REFERÊNCIAS

CLEELAND, R.; SQUIRES, E. Evaluation of new antimicrobials *in vitro* and in experimental animal infections. In: Lorian, V. M. D. Antibiotics in Laboratory Medicine. New York: Willians & Wilkins, p. 739-788, 1991.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARD INSTITUTE (CLSI) - Approved standard M2-A7: Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Seventh edition. Wayne-PA, 2003.

FERNANDES JÚNIOR, A.; SILVA, G. S.; BABOSA, L. N.; ALVES, F. C.; ANDRADE, B. F.; ALBANO, M.; DI STASI, L.C. Medicinal Plants from the Brazilian Savanna with Antibacterial Properties. European Journal of Medicinal Plants, v. 4, p. 1-13, 2014.

FERNANDES, Y.M.L. Banco de Dados de Óleos Essenciais de espécies vegetais do Cerrado maranhense: Composição Química. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química

Industrial) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2017.

FRIKECHE, J.; COUTEAU, C.; ROUSSAKIS, C.; COIFFARD, L. J. Research on the immunosuppressive activity of ingredients contained in sunscreens. Arch Dermatol Res, V. 307, n. 3, p. 211-218, 2015.

HADACEK, F.; GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparatibility of results and assay choice. Phytochemical Analyses, v.11, p. 137-147, 2000.

LIMA Jr, J.F.; DIMENSTEIN, M. A Fitoterapia na Saúde Pública em Natal/RN: visão do odontólogo. Saúde Ver, v.8, p.1937-44. 2006.

MACIEL, M.A.M., PINTO, A.C., VEIGA Jr. V.F., GRYNBERG, N.F., ECHEVARRIA, A. Plantas Medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. Quim Nova, v.25, n.3, p. 429-38,2002.

MAURYA, A. K.; SINGH, M.; DUBEY, V.; SRIVASTAVA, S.; LUQMAN, S.; BAWANKULE, D. Alfa(-)-bisabolol reduces pro-inflammatory cytokine production and ameliorates skin inflammation. Curr Pharm Biotechnol, v. 15, n. 2, p. 173-181, 2014.

NASCIMENTO, G. G.; LOCATELLI, J.; FREITAS P. C.; SILVA, G. L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. Brazilian journal of microbiology, v. 31, n. 4, p. 247-256, 2000.

OLIVEIRA, M. F. S. Fitoterapia e Biodiversidade no Brasil: saúde, cultura e sustentabilidade. Revista Ideas Ambientales, v.1, n.1, 2005.

OLIVEIRA, R. A.; LIMA, E. O.; VIEIRA, W.L. FREIRE, K.R. L.; TRAJANO, V. N.; LIMA, I.O.; SOUZA, E. L.; TOLEDO, M. S.; SILVA FILHO, R. N. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 16, n. 1, p. 77-82, 2006.

RATES SMK. Plants as source of drugs. Toxicon. v. 39, n.5, p.603-13, 2001.

RODRIGUEZ FLORES, Crescencio et al. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils Extracted from Plants Cultivated in Mexico. J. Mex. Chem. Soc. México, v. 58, n. 4, p. 452-455, 2014.

ROSENTHAL, V. D.; BIJIE, H.; MAKI, D. G.; MEHTA, Y.; APISARNTHANARAK, A.; MEDEIROS, E. A.; LIBLEBICIOGLO, H.; FISHER, D.; MORENO, C. A.; KHADER, I. A.; MARTÍNEZ, M. D. R. G.; CUELLA, L. E.; NAVOA-NG, J. A.; ABOUQAL, R.; GARCELL, H. G.; MITREV, Z.; GARCIA, M. C. P.; HAMDI, A.; DUENAS, L.;

*Atividade antibacteriana do óleo essencial de Lavandula híbrida grosso associado à ampicilina contra cepas de Staphylococcus aureus*

CANCEL, E.; GURSKIS, V.; RASSLAN, O.; AHMED, A.; KANJ, S. S.; UGALDE, O. C.; MAPP, T.; RAKA, L.; MENG, C. Y.; THU, L.T. A.; GHAZAL, S.; GIKAS, A.; NARVAÉZ, L. P.; MEJIA, N.; HADJIEVA, N.; ELANBYA, M. O. G.; SIRITT, M. E. G.; JAYATILLEKE, K. International Nacocoomical Infection Control Consortium (INCC),report,data summary of 36 countries, for 2004-2009. American jornal of infection control, v. 40, n. 5, p. 396-407, 2012.

SANTOS, N. O. D.; MARIANE, B.; LAGO, J. H. G.; SARTORELLI, P.; ROSA, W.; SOARES, M. G.; SILVA, A. M.; LORENZI, H.; VALLIM, M. A.; PASCON, R. C. Assessing the chemical composition and antimicrobial activity of essential oils Brazilian plants-eremanthuerythropappus (Asteraceae),Plectrantusbarbatus, and P. amboinicus (Lamiaceae). Molecules, v. 20, n. 5, p. 8440-8452, 2015.

TARDUGNO, R.; SERIO, A.; PELLATI, F.; D'AMATO, S.; LOPES, C. C.; BELLARDI, M.G.;

VITO, M. D.; SAVINI, V.; PAPARELLA, A.; BENVENUTI, S. Lavandula x intermedia and Lavandula angustifolia essential oils: phytochemical composition and antimicrobial activity against foodborne pathogens. Natural product research, v. 33, n. 22, p. 3330- 3335, 2019.

UPSON, T. The genus *Lavandula*. 1. ed. Kew: Royal Botanic Gardens, 2004.

VANDEPITTE, J.; ENGBAEK, K.; PIOT, P.; HEUCK, C. C.; LEVANON, Y. Procedimentos laboratoriais em bacteriologia clínica. OMS. São Paulo: Editora Santos, 1994, p. 87.

VINCENT, L. L.; RELLO, J.; MARSHALL, J.; SILVA, E.; ANZUETO, A.; MARTIN, C. D.; MORENO, R.; LIPMAN, J.; GOMERSSAL, C.; SAKR, Y.; REINHART, K. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. Jama, v. 302, n. 21, p. 2323-2329, 2009.