

EFEITO SINÉRGICO DE ANTIMICROBIANOS E ÓLEO ESSENCIAL DE Muña (*Mintostachys setosa*) FRENTE A *Staphylococcus aureus* MULTIRRESISTENTE

LISSETH PAMELA PERALTA-CANCHIS¹; LETÍCIA KLEIN SCHEIK²; ISABELA
SCHNEID KRONING³; GRACIELA VÖLZ LOPES⁴; WLADIMIR PADILHA DA
SILVA⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – lpc_07@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – leticiascheik@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – isabelaschneid@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – gracielaavlopes@yahoo.com.br

⁵Universidade Federal de Pelotas – wladimir.padilha2011@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus é um patógeno bacteriano envolvido em uma ampla gama de infecções clínicas, sendo também um dos principais agentes causadores de surtos de doenças de transmitidas por alimentos (DTA), ocasionada pela ingestão de enterotoxinas estafilocócicas pré-formadas por isolados enterotoxigênicos (JIA et al., 2019).

Desde a década de 1950, os antimicrobianos têm sido amplamente utilizados e, desde o início de sua utilização, a resistência bacteriana começou a preocupar (RAPINI et al., 2004). Desde então, a resistência a antimicrobianos tornou-se um problema de saúde pública (NAWAZ et al., 2002) e a rápida aquisição de resistência à maioria dos agentes antimicrobianos, como penicilinas, metilicina, macrolídeos, aminoglicosídeos, cloranfenicol e tetraciclina, dificulta o tratamento e o controle de infecções por diversos micro-organismos, incluindo *Staphylococcus* spp.

Sendo assim, torna-se cada vez mais importante a pesquisa de propriedades antimicrobianas em recursos naturais, como as plantas, para poderem ser utilizadas para fins terapêuticos (WIEST et al., 2009). Nesse sentido, destacam-se os óleos essenciais (OE), originados do metabolismo secundário das plantas, que apresentam compostos aromáticos voláteis como terpenos e seus derivados, os quais são os principais responsáveis por sua atividade antimicrobiana (POMBO et al., 2018). Diversos compostos químicos isolados de produtos do metabolismo secundário das plantas exercem alguma ação antimicrobiana, porém, apresentam atividade limitada quando utilizadas sozinhas. No entanto, ao serem combinadas entre si ou com antimicrobianos comerciais, aumentam o espectro de ação, elevando a taxa de letalidade dos micro-organismos, podendo evitar a resistência microbiana (SIMOES et al., 2009).

A espécie *Mintostachys setosa*, conhecida como Muña, é uma planta arbustiva aromática da família Lamiaceae, cultivada nos altiplanos andinos e utilizada como carminativo, digestivo e antiespasmódico (BRACK, 1999), é utilizada como conservante de alimentos, em especial de batatas e milho (OTOYA, 2020). O gênero *Mintostachys* apresenta espécies que são ricas em

OE e tem terpenos com ação antimicrobiana, no entanto, apenas OE de algumas dessas espécies foram estudados.

Diante do exposto, este trabalho avaliou o efeito sinérgico do OE de Muña aplicado em conjunto com quatro antimicrobianos aos quais o isolado de *S. aureus* apresenta resistência.

2. METODOLOGIA

Utilizou-se um isolado de *S. aureus* proveniente de um surto de intoxicação alimentar, pertencente a Coleção de Culturas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos do DCTA/FAEM/UFPEl, previamente caracterizado como multirresistente à tetraciclina, sulfonamina, eritromicina e claritromicina através do teste de disco difusão em ágar, seguindo o protocolo do CLSI (2016). O OE foi adquirido comercialmente (Pukllay Herbolaria Cusco, Perú) e obtido pelo método de arraste a vapor a partir de folhas secas da planta Muña, de origem andina.

Para a verificação do sinergismo entre o OE e os antimicrobianos comerciais, realizou-se o método de disco difusão em ágar (CLSI, 2016). O isolado foi cultivado em ágar Triptona de Soja (TSA, Acumedia®) durante 24 h, a 37 °C. Após esse período, foi diluído em solução salina 0,85% até a turbidez 0,5 na escala de McFarland ($\sim 10^8$ UFC.mL⁻¹) e, com auxílio de um swab esterilizado, foram semeados em placas de ágar Mueller–Hinton (MH, Acumedia®). Com uma pinça esterilizada, foram colocados os discos dos antimicrobianos aos quais o isolado apresentou resistência em testes prévios (sulfonamina (300 µg), tetraciclina (30 µg), eritromicina (15 µg) e claritromicina (15 µg)) e sobre os discos de antimicrobianos foram adicionados 10 µL do OE. Posteriormente à incubação por 24 h a 37°C, os diâmetros dos halos de inibição foram medidos e expressos em milímetros.

A análise estatística foi realizada utilizando o programa GraphPad 7.0, através de análise de variância (ANOVA) e a comparação de médias dos halos de inibição entre grupos pelo teste de Tukey. Foram considerados como diferença significativa valores de $p < 0,05$

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O OE de Muña apresentou atividade antimicrobiana contra o isolado de *S. aureus* multirresistente, com formação de halos com diâmetros de 15 mm, indicando a sensibilidade do isolado ao óleo (Fig.1). Observaram-se, também, resultados superiores quando se utilizaram associações do OE com os antimicrobianos aos quais o isolado de *S. aureus* avaliado mostrou-se resistente. Na Figura 1, observa-se a relação dos antimicrobianos testados, bem como a medida dos halos de inibição (em mm), com e sem o uso do OE de Muña.

Pelos resultados apresentados na Figura 1, observa-se sinergismo entre os antimicrobianos testados e o OE de Muña, sendo a maior diferença observada na associação com a sulfonamina (aumento de 10 vezes), seguido pela tetraciclina (aumento de 3 vezes), enquanto que a claritromicina e eritromicina

apresentaram um aumento de 1,6 vezes ($p < 0,01$). O efeito observado pode ter relação com a natureza lipídica dos compostos terpênicos presentes no óleo, o qual melhora o transporte do antimicrobiano para o interior da célula bacteriana, alterando a permeabilidade da membrana citoplasmática (HARRIS, 2002)

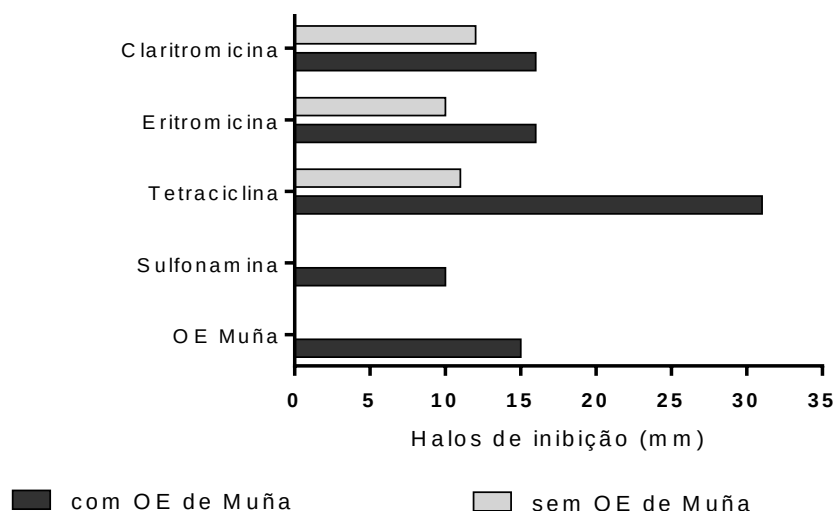


Figura 1. Diâmetro dos halos de inibição dos antimicrobianos testados contra *S. aureus* multirresistente, com e sem adição de OE de Muña.

ZAGO et al. (2009), verificaram sinergismo entre o OE de hortelã (*Rosmarinus officinalis*) e três antimicrobianos (gentamicina, tetraciclina e sulfazotrim) contra *S. aureus*, descrevendo que os antimicrobianos melhoraram seu perfil de sensibilidade quando expostos aos tratamentos com o OE, resultados similares aos obtidos no presente estudo.

Na literatura científica não foram encontrados estudos de sinergismo entre antimicrobianos e OE de Muña, porém, existem pesquisas realizadas com uma ampla variedade de OE e seus compostos isolados, como eugenol, timol, carvacrol, em combinação com antimicrobianos contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas sensíveis e resistentes, mostrando resultados promissores (BASSOLÉ e JULIANI, 2012).

Assim, devido a crescente resistência bacteriana aos antimicrobianos comerciais, existe uma tendência na procura de maneiras de minimizar o avanço da resistência aos fármacos existentes, ao invés de se desenvolver novas drogas mais potentes (HARRIS, 2002).

Tendo em vista que o isolado testado foi multirresistente à tetraciclina, sulfonamida, eritromicina e claritromicina, o resultado encontrado é relevante, porque o OE de Muña apresentou efeito sinérgico com possível potencial bioativo que pode ser o responsável pelo incremento da atividade dos antimicrobianos.

4. CONCLUSÕES

O OE de Muña aplicado em conjunto com antimicrobianos comerciais apresentou atividade sinérgica e diminuiu a resistência do isolado de *S. aureus* multirresistente, indicando que sua utilização pode ser promissora.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASSOLÉ, I.H.N.; JULIANI, H.R. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. **Molecules**, v.17, n.4, p.3989-4006, 2012.
- BRACK, A. Dicionario Enciclopédico de plantas útiles del Perú. Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas. **Cusco:-Perú**, p.48-95, 1999.
- CLSI, C. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. **Clinical Lab Standards Institute**, 2016.
- HARRIS, R. Synergism in the essential oil world. **The International Journal of Aromatherapy**, v.4, n.12, p.179-186, 2002.
- JIA, K.; FANG, T.; WANG, X.; LIU, Y.; SUN, W.; WANG, Y.; DING, T.; WANG, J.; LI, C.; XU, D. Antibiotic Resistance Patterns of Staphylococcus aureus Isolates from Retail Foods in Mainland China: A Meta-Analysis. **Foodborne Pathogens and Disease**, 2019.
- NAWAZ, M.S.; ERICKSON, B.D.; KHAN, A.A.; KHAN, S.A.; POTHULURI, J.V.; RAFII, F.; SUTHERL, J.B.; WAGNER, R.D.; CERNIGLIA, C.E. Human health impact and regulatory issues involving antimicrobial resistance in the food animal production environment. *Research Perspectives Journal*, online, 2002, CiteSeer.
- OTOYA, V.L. Consideraciones para el uso y estudio de la “muña” peruana *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb y *Minthostachys setosa* (Briq.) Epling. **Ethnobotany Research and Applications**, v.19, p.1-9, 2020.
- POMBO, J.C.P.; RIBEIRO, E.R.; DE LIMA PINTO, R.; DA SILVA, B.J.M. Efeito antimicrobiano e sinérgico de óleos essenciais sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v.25, n.2, p.108-117, 2018.
- RAPINI, L.; TEIXEIRA, J.; MARTINS, N.; CERQUEIRA, M.; SOUZA, M.; PENNA, C. Antimicrobial resistance profile of Staphylococcus sp. strains isolated from type" coalho" cheese. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.1, p.130-133, 2004.
- SIMOES, M.; BENNETT, R.N.; ROSA, E.A. Understanding antimicrobial activities of phytochemicals against multidrug resistant bacteria and biofilms. **Natural product reports**, v.26, n.6, p.746-757, 2009.
- WIEST, J.M.; CARVALHO, H.; AVANCINI, C.A.M.; GONÇALVES, A. Atividade anti-estafilócica em extratos de plantas com indicativo medicinal ou condimentar. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.11, n.2, p.209-215, 2009.
- ZAGO, J.A.; USHIMARU, P.I.; BARBOSA, L.N.; FERNANDES JUNIOR, A. Sinergismo entre óleos essenciais e drogas antimicrobianas sobre linhagens de Staphylococcus aureus e Escherichia coli isoladas de casos clínicos humanos. **Revista brasileira de farmacognosia**, p.828-833, 2009.