

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

CAIQUE ALVES PEREIRA DIAS

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATÓRIA *in vitro* POR CONTATO
GASOSO DO EUCALIPTOL**

Juazeiro do Norte – CE
2018

CAIQUE ALVES PEREIRA DIAS

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATÓRIA *in vitro* POR CONTATO
GASOSO DO EUCALIPTOL**

Artigo Científico apresentado à Coordenação do
Curso de Graduação em Biomedicina do Centro
Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às
exigências para a obtenção do grau de bacharel
em Biomedicina.

Orientador: Esp. Cícero Roberto Nascimento
Saraiva

Juazeiro do Norte – CE
2018

CAIQUE ALVES PEREIRA DIAS

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATÓRIA *in vitro* POR CONTATO
GASOSO DO EUCALIPTOL**

Artigo Científico apresentado à Coordenação do
Curso de Graduação em Biomedicina do Centro
Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às
exigências para a obtenção do grau de bacharel
em Biomedicina.

Orientador: Esp. Cícero Roberto Nascimento
Saraiva

Data de aprovação: ____/____/2018

BANCA EXAMINADORA

Prof. Esp. Cícero Roberto Nascimento Saraiva
Orientador

Prof^a Esp. Lívia Maria Garcia Leandro
Examinador 1

Prof. Esp. José Junior dos Santos Aguiar
Examinador 2

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATÓRIA *in vitro* POR CONTATO GASOSO DO EUCALIPTOL

Caique Alves Pereira Dias¹; Cícero Roberto Nascimento Saraiva²

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo verificar a atividade antibacteriana e modulatória *in vitro* por contato gasoso do eucaliptol. O material foi doado gentilmente pelo Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais (LPPN) da URCA (Universidade Regional do Cariri). A avaliação da atividade antibacteriana e modulatória foi testada frente as bactérias *Escherichia coli* 27, *Staphylococcus aureus* 358, *Escherichia coli* ATCC 25922, e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, onde essas linhagens foram semeadas em caldo BHI de acordo com o fabricante e ficaram incubadas à temperatura de 35°C para propiciar o desenvolvimento e em seguida foi utilizada a metodologia de contato gasoso. Para verificação da ação modulatória, foram utilizados os antibióticos: Amicacina, gentamicina, ciproflorxacina, e norfloxacin. Outras placas foram preparadas sem o eucaliptol, para posterior comparação entre placas com os antibióticos e placas com os antibióticos e eucaliptol. Para determinação dos halos de inibição, as placas foram incubadas na estufa a 37 °C por 24 h e foi observado que o eucaliptol não apresentou atividade antibacteriana frente as bactérias testadas e apresentou atividade modulatória significativa contra as cepas multirresistentes de *Escherichia coli*. Portanto, conclui-se que os resultados obtidos no presente estudo são importantes, devido ao uso de plantas medicinais, que apresentam o Eucaliptol na sua constituição. Porém é de relevância outros estudos para comprovar a eficácia do Eucaliptol, utilizando outras metodologias, além de contato gasoso.

Palavras-chave: Bactérias. Eucaliptol. Modulação.

EVALUATE OF ANTIBACTERIAL AND MODULATORY ACTIVITY *in vitro* BY GASOSUS CONTACT OF EUCALIPTOL

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the *in vitro* antibacterial and modulatory activity by gas contact of eucalyptol. The material was kindly donated by the Natural Products Research Laboratory (LPPN) of URCA (Regional University of Cariri). The evaluation of the antibacterial and modulatory activity was tested against the bacteria *Escherichia coli* 27, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* 358 and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, where these lines were seeded in BHI broth according to the manufacturer and were incubated at 35°C to promote development and then the gaseous contact methodology was used. To verify the modulatory action, the antibiotics were used: Amicacina, ciproflorxacina,

¹ Discente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, Juazeiro do Norte - CE

² Docente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, Juazeiro do Norte - CE

gentamicina and norfloxacin. Other plaques were prepared without eucalyptol, for further comparison between plaques with antibiotics and plaques with antibiotics and eucalyptol. In order to determine the inhibition halos, the plates were incubated in the oven at 37°C for 24 h and eucalyptol showed no antibacterial activity against the tested bacteria and presented significant modulatory activity against the multiresistant *Escherichia coli* strains. Therefore, it is concluded that the results obtained in the present study are important due to the use of medicinal plants, which present Eucalyptol in its constitution. However, other studies to prove the effectiveness of Eucalyptol, using other methodologies, besides gaseous contact are of relevance.

Keywords: Bacteria. Eucalyptol. Modulation.

1 INTRODUÇÃO

Produtos naturais são utilizados desde o início dos tempos com finalidade terapêuticas, sendo, o principal recurso terapêutico empregado no tratamento, na cura de distúrbios, na prevenção e empregado em disfunções ou doenças em homens e animais (CALIXTO, 2005).

Desde a origem do homem, os vegetais vem sendo aplicados no uso frente a diversas patologias. Desde os povos antigos, pôde ser observado que algumas plantas apresentam compostos em sua constituição, chamados de princípios ativos. Os quais, ao serem empregados à doenças, mostraram poder terapêutico, mesmo sendo testados sem características de um baseamento científico (BADKE et al., 2011).

Os óleos essenciais obtidos a partir de plantas medicinais são compostos bastante voláteis, que são extraídos do vegetal, onde está presente em folhas e caules de alguns grupos de vegetais, que apresenta compostos químicos diversificados, proporcionando distintas atividades biológicas (OUSSALAH et al., 2007).

O composto majoritário do óleo essencial de *Eucalyptus* é o eucaliptol (1,8-cineol), encontrado também em outras plantas como gengibre, alecrim, hortelã e canela. Sua aplicação envolve produtos farmacêuticos, loções para uso local (anestésico) e antisséptico. Possui também ação interna, como ação secretora em vias respiratórias (ESFPM, 2012).

Segundo Holetz et al. (2002), várias plantas brasileiras de uso popular possuem propriedades antibacteriana com constatação científica, e em muitas delas este resultado se dá em decorrência de seu óleo essencial.

No decorrer dos anos, diversos produtos foram testados a fim de determinar suas atividades biológicas. É observado que as plantas medicinais vem gerando compostos para a cura de diferentes doenças no mundo, como por exemplo, no tratamento de infecções causadas

por bactérias. Portanto, o presente estudo teve como objetivo a avaliação da atividade antibacteriana e modulatória *in vitro* por contato gasoso do eucaliptol.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 TIPO DE ESTUDO

O presente estudo trata-se de um estudo experimental, visto que foram realizados ensaios para evidenciar a atividade antimicrobiana do material vegetal, bem como avaliar o efeito modulador diante a antibióticos utilizados na clínica.

2.2 LOCAL E PERÍODO DE REALIZAÇÃO DOS TESTES

As atividades foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Leão Sampaio (UNILEÃO), Juazeiro do Norte– CE, durante o período de Agosto a Outubro de 2018.

2.3 OBTENÇÃO DO EUCALIPTOL

O composto Eucaliptol foi cedido gentilmente pelo Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais (LPPN) da Universidade Regional do Cariri (URCA), sob a coordenação do Dr. José Galberto Martins da Costa.

2.4 MEIO DE CULTURA

O Meio *Brain Heart Infusion* (BHI) foi o meio de cultura das cepas de escolha, preparado de acordo com as especificações sugeridas pelo fabricante.

2.5 MICRORGANISMOS

Os microrganismos utilizados nos testes foram as linhagens padrão das seguintes bactérias: *Escherichia coli* 27, *Escherichia Coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* 358 e *Stphylococcus aureus* ATCC 6538, ambas disponibilizadas pelo Centro Universitário Leão Sampaio.

2.6 PREPARO E PADRONIZAÇÃO DO INÓCULO BACTERIANO

As linhagens foram inoculadas em caldo BHI, na concentração indicada pelo fabricante e ficaram incubadas durante 24 horas à temperatura de 35°C para propiciar o desenvolvimento das cepas bacterianas. Estas suspensões acrescidas de bactérias desenvolvidas foram diluídas na proporção de 1:10 em caldo BHI até o equivalente a 10^5 céls/mL (NCCLSI, 2005).

2.7 TESTE DE AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULADORA POR CONTATO GASOSO

Para realização da semeadura dos microrganismos, foram utilizadas placas de Petri contendo Brain Heart Infusion (BHI) ágar. Discos de papéis filtro semelhantes aos de antibiograma que foram colocados no centro de cada placa sobre o semeio e 20 µL do produto testado foram acrescentados na tampa das placas. Para determinação dos halos de inibição, as placas foram incubadas na estufa a 37°C por 24 horas. Os testes foram realizados em triplicata e para determinação dos halos foi utilizada uma régua milimetrada.

Para a realização atividade moduladora por contato gasoso em placas de Petri contendo BHI, foi utilizada a metodologia modificada por (INOUE; TAKIZAWA; YAMAGUCHI, 2001). Foram utilizados discos de antibióticos: amicacina, gentamicina, norfloxacin e ciprofloxacina. As placas foram invertidas e 20 µL do eucaliptol foi acrescentado nas tampas permitindo que a partir da volatilização ocorresse a interação com os discos. Outras placas foram preparadas sem o eucaliptol para posterior comparação entre placas somente com os antibióticos e placas com antibióticos e o eucaliptol. Para determinação dos halos de inibição, as placas foram incubadas na estufa a 37°C por 24 horas. Os testes foram realizados em triplicata e para determinação dos halos foi utilizada uma régua milimetrada.

2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os testes foram realizados em triplicata e os resultados foram expressos em média geométrica. Para análise estatística foi aplicada ANOVA two-way seguida do teste de Bonferroni, considerando significância de $p \leq 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

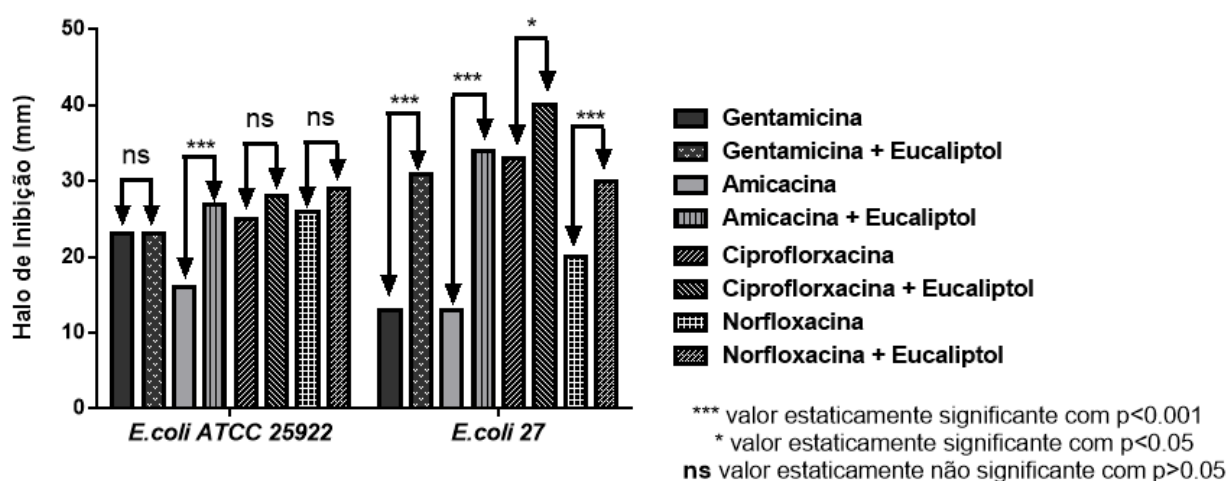
No presente trabalho foi verificado que o eucaliptol (1-8 cineol) não apresentou atividade antibacteriana, pelo método de contato gasoso.

Em trabalho realizado por Estanislau et al. (2001), foi observado que variados óleos essenciais extraídos de diferentes espécies de eucalipto também não apresentaram atividade antibacteriana, como é o caso do óleo essencial do *Eucalyptus cloeziana* e *Eucalyptus microcorys*, que não apresentaram atividade frente as cepas bacterianas de *Escherichia coli*, característica que pode ser atribuída ao eucaliptol, que é o composto majoritário de seus óleos essenciais.

Por se tratar de uma substância isolada, existe poucos relatos de atividade antibacteriana desse produto. Como foi constatado por Rios; Recio (2005), onde argumentaram que pesquisas sobre atividade antimicrobiana de substâncias isoladas encontram problemas devido à característica lipofílica de algumas amostras, corroborando assim para o resultado apresentado no presente trabalho.

Em relação à associação do produto com antibióticos, foi verificado que o eucaliptol apresentou atividade modulatória tanto para as cepas de *Staphylococcus aureus* quanto para as cepas de *Escherichia coli*, apresentando maior atividade modulatória frente as cepas de *Escherichia coli*

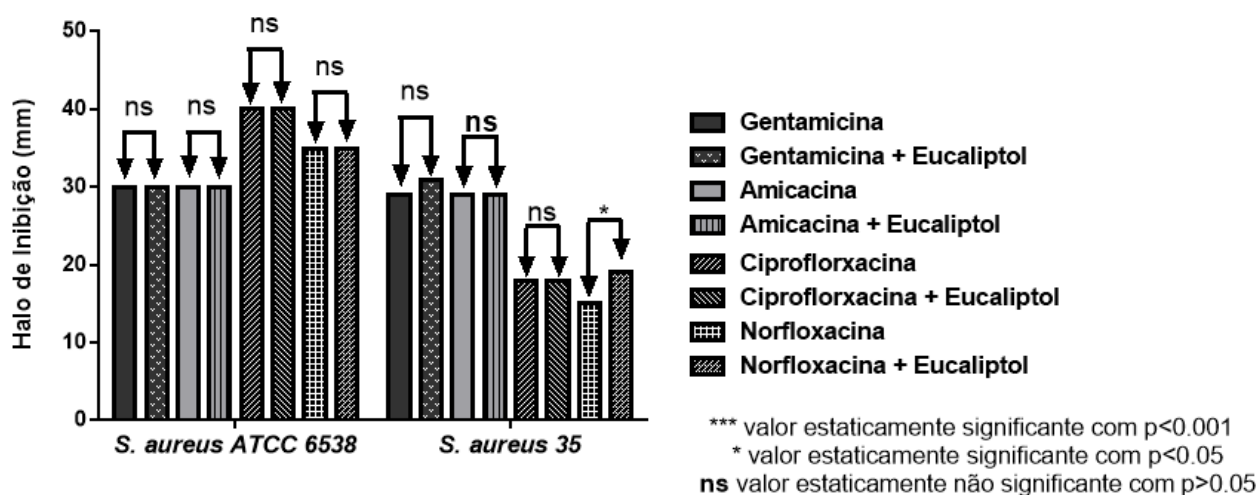
Gráfico 1: Potencial modulatório do Eucaliptol frente à *Escherichia coli*



Ppodemos observar que o eucaliptol apresentou melhores resultados frente as cepas bacterianas multirresistentes (*E. coli* 27), onde os antibióticos que apresentaram maior eficácia com associação com o produto foram gentamicina, amicacina e norfloxacin.

Não foi observado resultado relevantes frente as cepas bacterianas padrões. Entretanto podemos observar um aumento do halo de inibição com o antibiótico amicacina associado ao composto isolado testado.

Gráfico 2: Potencial modulatório do Eucaliptol frente à *Staphylococcus aureus*



Frente as cepas de *Staphylococcus aureus*, é observado que o eucaliptol não apresentou atividade modulatória relevante frente as cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*. Porém, houve um aumento discreto do halo de inibição em associação do eucaliptol com o antibiótico Norfloxacina, para as cepas de *Staphylococcus aureus* multirresistentes.

Como o eucaliptol é um composto isolado e não um óleo essencial, é possível que esse produto não tenha apresentado bons resultados contra *Staphylococcus aureus* devido não ser um composto lipídico, pois segundo Harris (2003) e Zhao et al. (2001) a natureza lipídica permite um melhor transporte do antibiótico para dentro da célula bacteriana, alterando a permeabilidade da membrana citoplasmática.

Porte e Goddoy (2001) realizaram trabalhos com o Alecrim onde não constatarem ação do óleo essencial do alecrim contra cepas de *Staphylococcus aureus*, um dos principais componentes do óleo essencial do alecrim é o composto em questão estudado, o 1-8 cineol (eucaliptol), corroborando com o presente estudo.

Já em pesquisas desenvolvidas por Mota, Turrini e Paveda (2015) com o óleo essencial de *Eucalyptus globulus*, foi obtido ação modulatória e antibacteriana frente cepas de *Staphylococcus aureus*. Podendo sugerir-se que, o poder antibacteriano e modulador contra *Saphylococcus aures* não é o composto majoritário do óleo essencial (eucaliptol) e sim outra substância, ou pela associação entre seus compostos.

Os óleos essenciais ricos em 1,8-cineol demonstraram ser ativos contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo a *Listeria monocytogenes*, contra a levedura *Candida albicans* e contra espécies de fungos fitopatogênicos, porém a atribuição dessas características, não pode ser pertinente apenas ao Eucaliptol (KOROCK; JULIANI; ZYGADLO, 2007).

4. CONCLUSÃO

Conclui-se que os resultados obtidos no presente estudo são importantes, devido ao uso de plantas medicinais, que apresentam o Eucaliptol na sua constituição. Tal composto possui outros fins utilizados na terapia, mas não apresentou eficácia contra bactérias, entretanto o mesmo, apresentou característica modulatória frente antibióticos utilizados na clínica.

É de relevância outros estudos para comprovar a eficácia do Eucaliptol, utilizando outras metodologias, além de contato gasoso.

REFERÊNCIAS

BADKE et al. Plantas medicinais: O saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Escola Anna Nery Revista de Enfermagem**. v.15, nº1, 2011.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, n. 1, 2005.

ESFPM. **Eucaliptol**. Disponível em:

<http://www.esfpm.com/outros/AL/MOLECULA%20do%20mes_Outubro.pdf>. Acesso em: 08 set 2018.

ESTANISLAU A.A et al. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies de *Eucalyptus* cultivadas em Goiás. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.11, n. 2, 2001.

HARRIS, R. Sinergism in the essential oil world. **The International Journal of Aromatherapy**, Reino Unido, v. 12, n. 4, 2003.

HOLETZ F.B et al. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Mem I Oswaldo Cruz**. v. 97, n. 1, 2002.

INOUE, S.; TAKIZAWA, T.; YAMAGUCHI, H. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 47, n. 5º, 2001.

KOROCK, A.R.; JULIANI, H.R.; ZYGADLO, J.A. **Bioactivity of essential oils and their components**. **Flavours and Fragrances**, vº87, nº1, 2007.

MOTA, V. S.; TURRINI, R. N. T.; POVEDA, V. B.; Atividade antimicrobiana do óleo de *Eucalyptus globulus*, xilitol e papaína: estudo piloto. **Revista da Escola de Enfermagem**. v. 49, n. 2, 2015.

NCCLS. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement**. CLSI/NCCLS document M100-S15 [ISBN 1-56238-556-9]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005.

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, nº 1, 2007.

PORTE, A.; GODOY, R. L. O. Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): Propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**. v. 19, n. 2, 2001.

RIOS, J. L.; RECIO, M. C.; Medicinal plants and antimicrobial activity. **J. Ethnopharmacol**, v. 100, nº 80, 2005.

ZHAO, W. H. et al. Mechanism of synergy between epigallocatechin gallate and beta-lactams against methicillin-resistant *S. aureus*. **Antimicrob Agents Chemothe**, Washington. v. 45, nº 6, 2001.