

## **ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* Kunth E TIMOL CONTRA *Acinetobacter baumannii***

**Rita Ingrid Sousa Fernandes<sup>1</sup>; Francisca Lidiane Linhares Aguiar<sup>2</sup>; Pedro Henrique Lima Rodrigues<sup>3</sup>; Marcelle Melo Magalhães<sup>4</sup>; Raquel Oliveira dos Santos Fontenelle<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Graduanda em Ciências Biológicas, CCAB, UVA. E-mail: if299008@gmail.com; <sup>2</sup>Pós doutoranda - Centro de Ciências Agrárias e Biológicas, UVA, E-mail: lidianelinhares@yahoo.com.br; <sup>3</sup>Graduando em Ciências Biológicas, CCAB, UVA, E-mail: pedrohrlr20@gmail.com; <sup>4</sup>Mestranda do Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, UFC, E-mail: marcelle2mm@hotmail.com; <sup>5</sup>Orientadora/Professora do Curso de Ciências Biológicas, CCAB, UVA, E-mail: raquelbios@yahoo.com.br.

**Resumo:** *Acinetobacter baumannii* tornou-se uma ameaça à saúde pública. Por isso, diversos estudos têm sido realizados em busca de novos compostos capazes de combater bactérias multirresistentes. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a composição química por meio da cromatografia gasosa e determinar a ação do óleo essencial da *Lippia origanoides* Kunth e do seu composto majoritário contra *A. baumannii*. A partir da avaliação da composição química foi identificado a prevalência do timol como composto majoritário do óleo essencial. Os compostos foram testados utilizando o método de microdiluição em caldo, onde o óleo obteve CIM de 0,312 mg/mL para todas as cepas, o mesmo valor obtido na CBM. Enquanto o timol apresentou CIM variando entre 0,312 - 0,156 mg/mL e CBM 0,312 - 0,156 mg/mL. Portanto, devido ao potencial antibacteriano demonstrado nos resultados, os compostos representam uma alternativa promissora contra infecções por *A. baumannii*.

**Palavras-chave:** Ameaça, compostos, infecções, microdiluição.

### **INTRODUÇÃO E OBJETIVO(S)**

A resistência aos antibióticos tornou-se uma das maiores complicações no tratamento de doenças bacterianas, provocando o aumento considerável da morbidade, mortalidade e custo na saúde pública, representando um grave problema para o Brasil e o mundo (CANGUSSU, 2020). A resistência desses microrganismos advém do fato de possuírem diversos mecanismos que impedem a ação dos antimicrobianos e dificultam o tratamento, portanto detentor de um potencial de transmissão generalizada (OLIVEIRA et al., 2023; OMS, 2017).

*Acinetobacter baumannii* é um cocobacilo Gram-negativo e um patógeno oportunista associado a infecções hospitalares que acometem principalmente pessoas imunodeficientes, provocando complicações no trato urinário, na pele, no trato gastrointestinal e até mesmo na corrente sanguínea, representando um desafio terapêutico devido a sua resistência (LEE et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2021).

Desde então, estudos têm sido realizados em busca de compostos de origem natural com atividade bactericida para o tratamento de doenças infecciosas. Pesquisas recentes destacam propriedades antimicrobianas no Óleo Essencial de *Lippia Origanoides* Kunth, representando uma alternativa promissora para o tratamento de infecções. Popularmente conhecida de “alecrim pimenta”, *L. origanoides* é uma planta proveniente do semiárido do



UNIVERSIDADE ESTADUAL  
VALE DO ACARAÚ

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação - PRPPG



**CEARÁ**  
GOVERNO DO ESTADO  
SECRETARIA DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA  
E EDUCAÇÃO SUPERIOR

nordeste brasileiro e possui grande importância nas indústrias farmacêuticas, de alimento e de cosmético devido a suas propriedades inseticida, antibacteriana, larvicida, acaricida e anti-inflamatória (PINHEIRO, 2021). Atuando como constituintes do Óleo Essencial de *Lippia*, o timol e o carvacrol agem afetando principalmente o equilíbrio eletrostático na membrana celular, devido à alta capacidade bactericida e fungicida (PINHEIRO, 2022).

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a composição química e a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia origanoides* e seu composto majoritário timol contra cepas de *Acinetobacter baumannii*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Cepas bacterianas

Foram utilizadas quatro cepas de *Acinetobacter baumannii* de isolados clínicos (AB 03, AB 13, AB 49 e AB 146) que fazem parte da coleção biológica do Laboratório de Microbiologia da FAMED (UFC/Sobral).

### Óleo essencial

O óleo essencial de *L. origanoides* oriundo da reserva de óleos essenciais do Laboratório de Microbiologia - LABMIC da Universidade Estadual Vale do Acaraú, foi obtido por hidrodestilação, o qual consiste no processo de arraste a vapor das partículas de óleo da amostra vegetal no equipamento do tipo Clevenger por aproximadamente 3 horas (MAJOLO et al., 2016).

### Análise dos componentes químicos do óleo essencial

A análise por CG-DIC foi realizada em um instrumento Shimadzu modelo CG-2010 Plus, coluna RTX- metilpolissiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m), modo de injeção com divisão de fluxo 1,30, gás carreador nitrogênio com fluxo 1,00 mLmin<sup>-1</sup> (84,1kPa) e velocidade linear constante de cm.s<sup>-1</sup>, temperatura do injetor 250°C, temperatura do detector de 280°C. Programação do forno cromatográfico: temperatura inicial de 70°C com rampa de aquecimento de 4°C.min<sup>-1</sup> até 180°C por 27,5 min, seguida por rampa de aquecimento de 10°C.min<sup>-1</sup> até 250°C, ao terminar da corrida (34,5min). A identificação dos compostos foi realizada através da comparação dos seus índices de retenção com os de compostos conhecidos, obtidos por injeção de uma mistura de padrões contendo uma série homóloga de alcanos C7-C30 (ADAMS, 2017).

### Atividade antimicrobiana

#### Concentração Inibitória Mínima (CIM)

O óleo e o timol foram diluídos em Dimetilsulfóxido (DMSO) 0,5% e testados na concentração de 2,5 mg/mL, sendo feito uso de um carbapenêmico padrão (Meropenem), testado na concentração de 1,0 mg/mL. A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada em triplicata segundo a metodologia de microdiluição em placas de poliestireno de 96 poços, segundo normas do documento M100-S 26<sup>a</sup> edição, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, desenvolvidas pelo CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), com adaptações, (CLSI, 2016).



UNIVERSIDADE ESTADUAL  
VALE DO ACARAÚ

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação - PRPPG



**CEARÁ**  
GOVERNO DO ESTADO  
SECRETARIA DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA  
E EDUCAÇÃO SUPERIOR

### Preparação da placa de 96 poços

O preenchimento da placa de 96 poços seguiu da seguinte forma: primeiramente houve a adição de 100µL de BHI caldo em todos os poços da placa, logo após foi colocada 100µL das soluções teste em triplicatas nos poços da coluna 1, sendo A, B e C destinadas ao óleo essencial; D, E e F para Timol e G e H para o Meropeném, seguida de diluição seriada, ou seja, retira-se 100µL dos poços da coluna 1, passando para os poços das colunas subsequentes fazendo movimento de “up and down” até a coluna 10 para obtenção das demais concentrações decrescentes desejadas. Por fim, cada poço recebeu 100µL da suspensão bacteriana ajustada de acordo com a escala McFarland 0.5 ( $10^6$  UFC/mL). As colunas 11 e 12 foram reservadas para os controles: positivo (meio de cultura mais cultura bacteriana) e negativo (apenas meio de cultura). Em seguida a microplaca foi incubada a 35°C por 24h. Após o tempo de incubação, foi realizada a leitura considerando os poços que não tiveram crescimento visual.

### Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Na determinação da concentração bactericida mínima (CBM), transfere-se 10µL dos poços onde não houve crescimento microbiano visível para placas de Petri contendo meio Ágar BHI, que em seguida foram incubadas a 35°C por 24h na estufa. Para a CBM foi considerada a menor concentração dos compostos onde não houve crescimento celular sobre a superfície do ágar inoculado.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os constituintes do óleo essencial obtido por meio da cromatografia gasosa, foi evidenciado a presença de 8 constituintes (Tabela 1), tendo como composto majoritário o Timol com 80,02%, semelhante na literatura, contudo, o resultado obtido neste trabalho foi maior que no trabalho de Majolo *et al.* (2016), com 76,6%. Mesmo com variações na quantidade da composição química, o timol prevalece como composto majoritário.

**Tabela 1.** Composição química do OE de *Lippia origanoides*.

<b>T<sub>r</sub> (min)</b>	<b>Composto</b>	<b><sup>2</sup>IR<sub>calc</sub></b>	<b><sup>3</sup>IR<sub>lit</sub></b>	<b>Área (%)</b>
5,381	α-Pineno	935	932	0,45
6,678	Mirceno	999	988	3,23
7,639	p-Cimeno	1035	1020	9,68
7,751	Eucaliptol	1039	1026	0,39
14,112	Éter metil timol	1252	1232	0,90
16,145	Timol	1316	1289	80,02
20,558	β-Cariofileno	1456	1417	3,65
25,838	Óxido de cariofileno	1635	1582	1,68
<b>Composição Total</b>				<b>100,00</b>

<sup>1</sup>Valore de IR calculado.

<sup>2</sup>Valores de IR da literatura<sup>2</sup>.

**Tabela 1.** Resultado da atividade do óleo essencial *Lippia organoides* kunth e do seu composto majoritário Timol contra isolados clínicos de *Acinetobacter baumannii*.

Cepas	Óleo da <i>Lippia</i>		Timol		Meropeném	
	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)	CIM (µg/mL)	CBM (µg/mL)
AB 03	0,312	0,312	0,156	0,312	128	128
AB 13	0,312	0,312	0,312	0,312	128	256
AB 49	0,312	0,312	0,156	0,156	128	256
AB 146	0,312	0,312	0,312	0,312	32	64

Os resultados obtidos pelo método de microdiluição em caldo (tabela 2) com o Meropeném, evidenciaram que apenas a cepa AB 146 apresentou CIM equivalente a 32 µg/mL, mantendo um predomínio da concentração de 128 µg/mL nas demais cepas e a CBM variando entre 64 - 256 µg/mL. Todas as cepas testadas com o óleo da *Lippia* apresentaram CIM de 0,312 mg/mL, o mesmo valor obtido na CBM, demonstrando atividade bactericida onde a concentração que inibiu o crescimento também matou as cepas. Já o composto majoritário, timol, apresentou CIM variando entre 0,312 - 0,156 mg/mL e CBM entre 0,312 - 0,156 mg/mL, semelhante ao resultado obtido por Fonteles (2023) ao verificar a atividade do timol contra *Acinetobacter baumannii*, com CIM variando entre 0,156 - 0,312 mg/mL e o CBM entre 0,624 - 0,126 mg/mL.

Apesar de não haver muitos trabalhos sobre a ação do óleo da *L. organoides* contra *Acinetobacter baumannii*, no estudo realizado por Pinheiro (2021), foi avaliado o potencial antimicrobiano frente a bactérias Gram-negativas multirresistentes, onde foi obtido variações de CIMs entre 0,312 - 0,625 mg/mL para *Escherichia coli* e entre 2,5 - 0,312 mg/mL para *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*, valores que se enquadram ao observado na presente avaliação contra *Acinetobacter baumannii*.

## CONCLUSÃO

Em síntese, o óleo essencial da *Lippia organoides* e seu composto majoritário, o timol, demonstraram um importante potencial para aplicação em tratamentos contra infecções ocasionadas por *Acinetobacter baumannii*, devido a confirmação da ação inibitória e bactericida em ambos os compostos. Portanto, é de extrema importância a continuidade dos estudos avaliativos que corroborem os resultados atuais, para então o desenvolvimento de novos fármacos a partir dos compostos.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento da pesquisa e à Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA) por possibilitar o desenvolvimento acadêmico a partir do acesso ao programa de iniciação científica, permitindo o avanço do presente estudo.



UNIVERSIDADE ESTADUAL  
VALE DO ACARAÚ

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação - PRPPG



**CEARÁ**  
GOVERNO DO ESTADO  
SECRETARIA DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA  
E EDUCAÇÃO SUPERIOR

## REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography / mass spectroscopy**. Allured Publishing Corporation, 4.1<sup>th</sup> Edition, Carol Stream, IL, USA, 2017.

CANGUSSU, E. W. S. **Importância do *Acinetobacter baumannii* no ambiente hospitalar**. Journal of Biotechnology and Biodiversity, v. 8, n. 1, p. 041–046, 2020.

CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 26th ed. CLSI supplement M100S. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, Pennsylvania, 2016.

FONTELES, A. V. **Avaliação da atividade antimicrobiana do timol em isolados nosocomiais de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenêmicos**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2023.

KYRIAKIDIS, I. *et al.* ***Acinetobacter baumannii* Antibiotic Resistance Mechanisms** Pathogens, 10, no. 3: 373, 2021.

LEE, C. R. *et al.* **Biology of *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options**. Frontiers in cellular and infection microbiology, v. 7, p. 55, 2017.

MAJOLO, C., *et al.* **Composição química e atividade antibacteriana de óleos essenciais**. 2016.

OLIVEIRA, J.; REYGAERT, W. C. **Gram Negative Bacteria**. StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 2022.

PINHEIRO, L. G. **Potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Lippia sidoides* contra bactérias gram-negativas multidroga resistentes**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2021.

PINHEIRO, L. G. *et al.* **Inhibitory and bactericidal activities of *Lippia organoides* essential oil against *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* multidrug resistant**. Research, Society and Development, v. 11, n. 9, 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.* **Guidelines for the prevention and control of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* in health care facilities**. World Health Organization, 2017.