3º CONGRESSO TUDO É CIÊNCIA: NO COMBATE À DESINFORMAÇÃO
X ENCONTRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA DO UNIFOA
ORGANIZAÇÃO: UniFOA

Óleo essencial de cravo-da-índia e antibióticos comerciais: uma batalha *in vitro* contra a inibição de *Escherichia coli*

Lucas Carvalho Soares[1]; 0000-0001-6618-295X
Eduardo Alves de Souza[1]; 0123-0123-0123-0123
Adriana Ursulino Alves[2]; 0000-0002-3074-6079

1 – UFRRJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.
2 – UFPI, Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus, PI
lucasolisoares@hotmail.com (contato principal)

Resumo: O controle da atividade microbiana é essencial devido ao aumento da resistência antimicrobiana, especialmente em hospitais e na indústria alimentícia. Óleos essenciais, como o de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), têm mostrado potencial antibacteriano e antifúngico. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do óleo essencial de cravo e clorexidina como agente antimicrobiano em diferentes concentrações contra *E. coli*. O estudo realizado no Laboratório de Microbiologia da UFES, onde testou-se óleo essencial de cravo e clorexidina em diferentes concentrações que foram aplicados em discos de papel de filtro. Os discos foram colocados em placas com isolados de *E. coli* incubados por 24 horas a 36,5 °C, medindo-se os halos de inibição para avaliar a eficácia antimicrobiana. Como controle, foram usados antibióticos estreptomicina e gentamicina. Os resultados foram analisados estatisticamente por ANOVA e teste de Tukey para verificar a significância das diferenças observadas ao nível de 5%. Observou-se, com esse estudo, que o óleo essencial de cravo, em sua concentração inicial (sem diluição), apresentou o maior halo de inibição do crescimento bacteriano, que reduziu proporcionalmente de tamanho na medida em que as diluições do óleo essencial foram aumentadas. Esses resultados indicam que, nas condições deste ensaio *in vitro*, *E. coli* apresentou sensibilidade ao óleo essencial de cravo, sobretudo quando comparado aos demais tratamentos, como clorexidina, estreptomicina e gentamicina. Esse trabalho buscou abrir um caminho de pesquisa sobre o potencial fitoterápico e de uso na indústria alimentar do óleo essencial de cravo.

Palavras-chave: Controle microbiano. Resistência. Halo de inibição. Testes *in vitro*.

INTRODUÇÃO

O controle da atividade microbiana é um tema de crescente importância tanto na Saúde Pública quanto na indústria alimentícia. A resistência a antimicrobianos, especialmente em colônias bacterianas de origem hospitalar, tem se intensificado nas últimas décadas. Portanto, entender os mecanismos de ação dos antimicrobianos é crucial para maximizar sua eficácia e minimizar os efeitos colaterais (ARAÚJO et al, 2016).

A resistência microbiana tem dificultado a produção de novos antimicrobianos, levando ao uso de complexos orgânicos ou inorgânicos como alternativa para inibir a atividade microbiana (SILVA et al., 2020). Neste sentido, os óleos essenciais, conhecidos por suas propriedades antibacterianas, antifúngicas e inseticidas, têm se destacado em várias indústrias (SILVA et al, 2016), como é o caso do óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) (GOMES et al., 2018)

O óleo essencial do cravo-da-índia tem como composto majoritário o eugenol que apresenta propriedades inibitórias para bactérias Gram-positivas (como *Staphylococcus aureus*) negativas (a exemplo de *Escherichia coli*). De modo geral, o óleo essencial de cravo tem potencial como antioxidante, constituindo-se como uma boa opção para a formulação de novos produtos (SILVESTRI et al., 2010).

Além disso, fármacos comerciais como a Clorexidina se destaca como um agente antimicrobiano eficaz contra uma ampla gama de microrganismos, incluindo bactérias Gram-positivas e negativas, além de vírus e fungos. Sua ação ocorre nas membranas celulares dos microrganismos (HORTENSE et al, 2010).

À vista disso, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do óleo essencial de cravo e clorexidina como agente antimicrobiano em diferentes concentrações contra *E. coli*.

MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Laboratório de Microbiologia do campus Alegre da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), o óleo essencial de cravo a clorexidina foram obtidos comercialmente. Para a realização deste experimento, foram utilizadas cepas de *Escherichia coli* obtidas da coleção do laboratório de microbiologia da UFES. As cepas foram mantidas em meio ágar Mueller-Hinton a 4 °C. Para os

ensaios, foram utilizados repiques de 24 horas em ágar Mueller-Hinton, incubados a 35 °C. Após a incubação, foram selecionadas de três a cinco colônias da cepa, as quais foram transferidas para dois tubos de ensaio contendo solução salina estéril (1%). A turbidez da suspensão bacteriana foi ajustada para aproximadamente 1,5 x 10^8 UFC/mL, conforme o padrão de turbidez do tubo 0,5 da escala de McFarland.

Os ensaios de atividade antibacteriana foram conduzidos utilizando o método de difusão em disco de papel de filtro, com base no protocolo de Kirby & Bauer (NARDELI et al., 2014). Inicialmente, a clorexidina foi diluída em água destilada estéril para obter concentrações de 10 mg (concentração inicial sem diluição), 7 mg e 4 mg. Em seguida, foi preparado o óleo essencial de cravo, mantendo-se a concentração original conforme especificada pelo fabricante, e diluições foram feitas nas proporções de 1/10 e 1/5 microlitros do óleo essencial em álcool metílico. Após as diluições, discos de papel de filtro esterilizados, com 6 mm de diâmetro, foram embebidos nas soluções de clorexidina e óleo essencial de cravo, conforme descrito por Haida et al. (2007).

Os discos foram então aplicados sobre meios de cultura Mueller-Hinton inoculados com *E. coli* com auxílio de um swab. As placas foram incubadas a 36,5 °C por 24 horas. Como controle positivo de sensibilidade, foi utilizada estreptomicina e gentamicina (10 µg). Após a incubação, o diâmetro dos halos de inibição foi medido com um paquímetro digital. Os testes foram realizados em triplicata, e o resultado final foi expresso como a média dos diâmetros (mm) das zonas de inibição, de acordo com Guimarães et al. (2010).

Os dados foram registrados em planilha para análise estatística (ANOVA), teste de Tukey e assim interpretados, visando determinar a significância estatística das observações realizadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados observados nesse trabalho acerca da avaliação dos efeitos antimicrobianos dos óleos essenciais de cravo e da clorexidina, estão de acordo com a literatura, neste caso, a metodologia por disco difusão confirmou a ação antimicromiaba do óleo essencial de cravo sob a cepa de *E. ecoli*.

Entre os principais patógenos veiculados por alimentos, *Escherichia coli* tem se destacado devido à recorrência de surtos a cada ano. Os produtos alimentícios frequentemente associados a essa bactéria patogênica incluem carne moída de bisão, salada de frango, hambúrgueres de carne bovina, queijo de leite cru e molho de frutos do mar (KOUTSOUMANIS et al., 2020).

Com base nos dados apresentados na Tabela 1 e na análise estatística realizada por meio do teste de Tukey com significância de 5%, observou-se que o óleo essencial de cravo, em sua concentração inicial (sem diluição), apresentou o maior halo de inibição do crescimento bacteriano. Conforme as diluições do óleo essencial foram aumentadas, houve uma redução proporcional no halo de inibição, demonstrando uma clara relação dose-dependente. Esses resultados indicam que, nas condições deste ensaio *in vitro*, *E. coli* apresentou sensibilidade ao óleo essencial de cravo, sobretudo quando comparado aos demais tratamentos, como clorexidina, estreptomicina e gentamicina. Mesmo com a variação de concentração, esses antimicrobianos exibiram um desempenho inferior quando comparados à concentração inicial do óleo essencial de cravo.

Tabela 1 – Valores dos halos de inibição (mm) promovidos pelo óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) e clorexidina, em comparação com os controles positivos realizados com estreptomicina e gentamicina.

Tratamentos	Concentração	Halo de inibição (mm)
Óleo essencial	C.I	23,33a
Óleo essencial	01/5	18,33ab
Óleo essencial	01/10	17,83ab
Estreptomicina	10 ug	17,33ab
Clorexidina	10 mg/Ml	17,00ab
Clorexidina	7 mg/Ml	14,83ab
Clorexidina	4 mg/Ml	13,33ab
Gentamicina	10 ug	12,00b
CV(%)	22,04	

Estes resultados reforçam o potencial do óleo essencial de cravo como um agente antimicrobiano promissor. A superioridade do óleo essencial em relação aos antimicrobianos convencionais, como a clorexidina e os antibióticos estreptomicina e gentamicina, sugere que os compostos presentes no óleo podem atuar de forma mais

eficaz contra as cepas de *E. coli* testadas. Além disso, é importante destacar que os mecanismos de ação dos óleos essenciais podem envolver a desestabilização das membranas bacterianas, além de interações com componentes intracelulares essenciais para o metabolismo microbiano, o que contribui para o efeito bactericida.

Ressalta-se que apesar dos resultados positivos, é crucial ampliar os estudos para avaliar a eficácia do óleo essencial de cravo contra um espectro maior de patógenos. Além disso, investigações adicionais sobre a toxicidade, a segurança para o uso em humanos e a estabilidade do óleo em diferentes condições são fundamentais para estimar seu real potencial como uma alternativa aos antibióticos convencionais. A resistência bacteriana continua sendo um desafio crescente, e o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas, como o uso de produtos naturais, torna-se uma abordagem relevante para o controle de infecções bacterianas. Assim, este estudo contribui para a crescente evidência do potencial dos óleos essenciais como ferramentas no combate à resistência antimicrobiana.

Neste contexto, a literatura científica sugere que o óleo essencial de cravo pode induzir a deterioração da parede celular bacteriana, resultando no aumento da permeabilidade da membrana celular e no extravasamento dos componentes intracelulares. Adicionalmente, o óleo essencial tem a capacidade de penetrar no citoplasma celular, inibindo a síntese de DNA e proteínas, o que leva à morte celular (XU et al., 2016). Esses mecanismos são consistentes com os dados apresentados no nosso estudo.

A literatura já demonstra uma vasta gama de pesquisas sobre a aplicabilidade do óleo essencial de cravo como agente antimicrobiano, especialmente no controle de cepas de *E. coli*. Em um estudo, o óleo essencial de cravo foi utilizado em hambúrgueres de carne bovina cozidos, resultando em uma redução de 0,3 log UFC/g nas contagens de *E. coli* O157 em comparação com as amostras de controle (ROUNDS et al., 2013).

Outro experimento, que aplicou o óleo essencial de cravo em uma camada de revestimento, observou reduções de 3 a 5 log UFC/g para *E. coli* (PTCC 3315) em filés de carpa prateada após 16 dias de armazenamento a 4 °C (JALALI et al., 2016). Além disso, um estudo relacionado relatou que os óleos essenciais de tomilho e cravo

reduziram significativamente as contagens de *E. coli* O157 no queijo Kariesh durante o armazenamento. Após 14 dias, o óleo essencial de cravo (1%) causou uma redução de 1,8 log UFC/g, enquanto o óleo essencial de tomilho (1%) levou a uma redução de 6 log UFC/g (KAVAS et al., 2015).

Os altos níveis de eugenol presentes no óleo essencial de cravo são amplamente reconhecidos por suas potentes atividades biológicas e antimicrobianas. Tanto o eugenol quanto outros compostos fenólicos presentes no óleo são capazes de desnaturar proteínas e interagir com os fosfolipídios das membranas celulares, o que altera a permeabilidade da célula, resultando na inibição de uma ampla gama de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, além de diversos tipos de leveduras (CHAIEB et al., 2007).

Diante disso, os resultados deste estudo estão em conformidade com as evidências científicas atuais, corroborando o potencial promissor do óleo essencial de cravo como uma alternativa eficaz aos antimicrobianos convencionais. Diante da crescente preocupação com a resistência bacteriana torna imperativo o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos, e o óleo essencial de cravo, devido à sua forte atividade antimicrobiana e ao seu perfil de segurança, destaca-se como uma abordagem promissora para o futuro dos tratamentos alternativos. Além disso, a eficácia comprovada desse óleo em alimentos com base na literatura, reforça seu potencial para uso em estratégias de conservação e segurança alimentar.

CONCLUSÕES

O teste *in vitro* indicou que o óleo essencial de cravo possui atividade inibitória sobre cepas de *E. coli*, superando os tratamentos antimicrobianos padrão, como clorexidina, estreptomicina e gentamicina. No entanto, para validar o potencial fitoterápico e uso na indústria alimentar do óleo essencial de cravo, são necessárias investigações adicionais *in vivo*, sobretudo no que diz respeito aos possíveis efeitos colaterais e à segurança.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, Bruna Carolina de et al. Prevenção e controle de resistência aos antimicrobianos na Atenção Primária à Saúde: evidências para políticas. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 27, p. 299-314, 2022.

BLANCHARD, Patricia Carey. Diagnostics of dairy and beef cattle diarrhea. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 28, n. 3, p. 443-464, 2012.

CHAIEB, Kamel et al. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzigium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 21, n. 6, p. 501-506, 2007.

GUIMARÃES, Denise Oliveira; MOMESSO, Luciano da Silva; PUPO, Mônica Tallarico. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química nova**, v. 33, p. 667-679, 2010.

GOMES, Paulo Roberto et al. Caracterização química e citotoxicidade do óleo essencial do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*). **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, v. 47, n. 1, p. 37-52, 2018.

HAIDA, K. S. et al. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 11, p. 185-192, 2007

HORTENSE, Sandra Regina et al. Uso da clorexidina como agente preventivo e terapêutico na odontologia. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, v. 22, n. 2, p. 178-184, 2010.

JALALI, Nastaran; ARIIAI, Peiman; FATTAHI, Esmaeil. Effect of alginate/carboxyl methyl cellulose composite coating incorporated with clove essential oil on the quality of silver carp fillet and Escherichia coli O157: H7 inhibition during refrigerated storage. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, p. 757-765, 2016.

KAVAS, G.; KAVAS, NAZAN; SAYGILI, D. The effects of thyme and clove essential oil fortified edible films on the physical, chemical and microbiological characteristics of kashar cheese. **Journal of food quality**, v. 38, n. 6, p. 405-412, 2015.

KOUTSOUMANIS, K. et al. Pathogenicity assessment of Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) and the public health risk posed by contamination of food with STEC. **Efsa Journal**, v. 18, n. 1, p. e05967, 2020.

NARDELI, Jéssica V. et al. Sintese, caracterizacao e atividade biologica do acetato de Cu (II) para larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) e bacterias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* e *Lysteria monocytogenes*. **Orbital: The Electronic Journal of Chemistry**, v. 6, n. 3, p. 122-129, 2014.

ROUNDS, Liliana et al. Concentration-dependent inhibition of Escherichia coli O157: H7 and heterocyclic amines in heated ground beef patties by apple and olive extracts, onion powder and clove bud oil. **Meat science**, v. 94, n. 4, p. 461-467, 2013.

SILVA, J. B. et al. Desenvolvimento de sorvete de azeite de oliva extra virgem. In: **XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 2016.

SILVA, Rafael Almeida da et al. Resistência a Antimicrobianos: a formulação da resposta no âmbito da saúde global. **Saúde em debate**, v. 44, p. 607-623, 2020.

SILVESTRI, Jandimara Doninelli Fior et al. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (Eugenia caryophyllata Thunb.). **Revista Ceres**, v. 57, p. 589-594, 2010.

XU, Jian-Guo et al. Chemical composition, antibacterial properties and mechanism of action of essential oil from clove buds against Staphylococcus aureus. **Molecules**, v. 21, n. 9, p. 1194, 2016.