

Atividade antimicrobiana do óleo essencial de Capim Limão (*Cymbopogon flexuosus* Steud. Wats.) frente a bactérias isoladas de aves¹

Izabela Lorena Azevedo², Ernane Ronie Martins³, Anna Christina de Almeida³, Wedson Carlos Lima Nogueira³, Daniel Emygdio de Faria Filho⁴, Stephanie Pedrosa Oliveira⁵

RESUMO: O uso de antibióticos como melhoradores de desempenho tem representado risco à saúde pública. Como alternativa, é possível utilizar aditivos naturais, como o óleo essencial de Capim Limão. Objetivou-se avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* frente a *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* entéricas isoladas de *Gallus gallus domesticus*. Foram realizados testes de difusão em disco, além da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM), utilizando cinco concentrações distintas do óleo (160; 80; 40; 20 e 10 µL/mL). As concentrações de 160 e 80 µL/mL propiciaram os maiores diâmetros de halos de inibição na difusão em disco, diferindo estatisticamente das demais concentrações e também entre si, sendo que a concentração de 160 µL/mL gerou os maiores halos. Houve efeito inibitório (CIM) a partir da concentração de 80 µL/mL, mas a CBM não foi detectada. Conclui-se que o óleo essencial de Capim Limão apresenta atividade antimicrobiana frente a *S. aureus* e *E. coli* isoladas de aves a partir da concentração de 80 µL/mL, obtendo o melhor resultado na concentração de 160 µL/mL. Novos estudos são necessários para avaliar a eficácia do uso de doses superiores e indicar esse óleo como aditivo em dietas de aves.

Palavras-chave: Avicultura. Capim-santo. *Escherichia coli*. Plantas medicinais. *Staphylococcus aureus*.

¹Parte da Dissertação de mestrado do primeiro autor, financiada pela FAPEMIG

²Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Produção Animal - ICA/UFMG, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil. e-mail: azevedobella71@yahoo.com.br

³Professor ICA/UFMG, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil

⁴Professor FZEA/USP, Pirassununga, São Paulo, Brasil

⁵Graduanda do curso de Zootecnia, ICA/UFMG, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil

Introdução

O uso de antimicrobianos como aditivos nas rações na avicultura vem sendo restringido em virtude da resistência microbiana e resíduos em carne e ovos. Os óleos essenciais, como o de Capim limão (*Cymbopogon flexuosus*) podem ser alternativas viáveis para atuar como melhoradores, visto que, em virtude de seu potencial antimicrobiano no intestino, podem melhorar a digestão e o desempenho (SANTOS *et al.*, 2005).

Objetivou-se avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* frente a bactérias entéricas isoladas de aves (*Gallus gallus domesticus*).

Material e métodos

O óleo essencial foi adquirido comercialmente (Ferquima Indústria e Comércio LTDA.).

As amostras de *E. coli* e *S. aureus* foram isoladas da cloaca de aves (*Gallus gallus domesticus*) sadias (Setor de Avicultura do ICA/UFMG) em estudo prévio (SOUZA, 2013).

Os testes de sensibilidade foram conduzidos conforme NCCLS (2003; 2005).

A CIM (Concentração Inibitória Mínima) foi determinada por meio do método de Macrodiluição (tubo) em caldo. Foram preparados 7 tubos de ensaio contendo 4,2 mL de BHI e 20 µL de Tween 80, acrescidos de 800 µL do óleo essencial e homogeneizados, tendo, em seguida, o mesmo volume transferido para o próximo tubo, obtendo-se as concentrações de 160 µL/mL; 80 µL/mL; 40 µL/mL; 20 µL/mL e 10 µL/mL, com oito repetições cada. Por fim, cada tubo recebeu 12,5 µL do inóculo da cultura ativa, padronizado para 0,5 na escala McFarland. Os controles negativo e positivo foram tubos sem a cultura e sem o óleo essencial, respectivamente. Após 24 horas em estufa a 37°C, a turbidez das amostras foi comparada com os controles e negativo.

Para a CBM (Concentração Bactericida Mínima) as concentrações do óleo em que não foi observado crescimento bacteriano na CIM foram plaqueadas em ágar PCA e incubadas a 37°C por 24 horas, quando foi realizada a contagem das colônias.

No teste de difusão em disco, cinco discos de papel filtro estéreis (6 mm de diâmetro) foram embebidos em 10 µL de cada uma das concentrações de óleo e depositadas em placas (8 repetições para cada micro-organismo) contendo ágar *Mueller Hinton* e as culturas estudadas. O controle

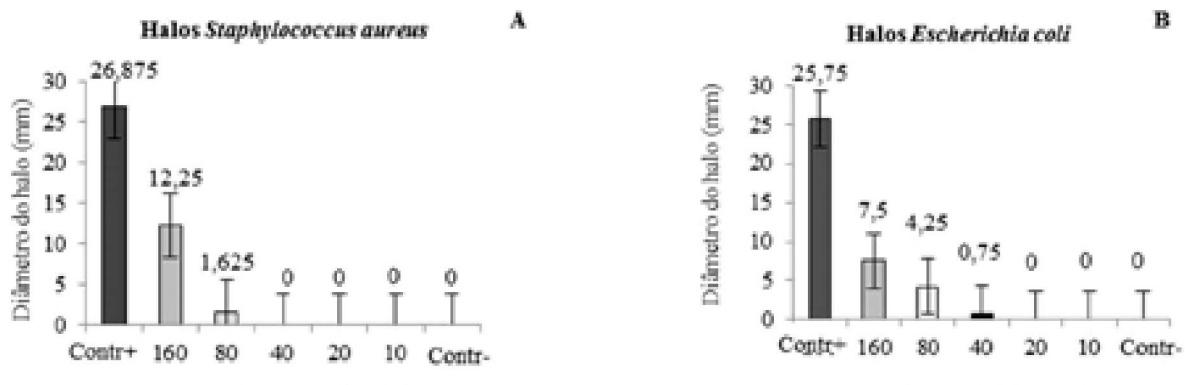
negativo foi um disco de papel embebido em água destilada e Tween 80 e o controle positivo foi um disco de antibiótico comercial (Amicacina). As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas antes da leitura dos halos.

Os dados foram submetidos à Análise de Variância e teste de *Bonferroni*, no programa estatístico “*Graf Pad Prism*”.

Resultados e discussão

O óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* apresentou efeito antimicrobiano frente às duas espécies testadas (FIGURA 1), mas apenas a concentração de 160 µL/mL diferiu dos controles positivo e negativo e de todas as outras concentrações, de acordo com o teste de *Bonferroni* ($p < 0,05$). No teste de CIM, houve diminuição do crescimento microbiano a partir da concentração de 80 µL/mL para os dois micro-organismos. No teste de CBM, observou-se crescimento em pelo menos uma das repetições em cada concentração (40, 80 e 160 µL/mL), o que indica que a CBM não foi determinada nas concentrações do óleo estudadas e está, portanto, acima de 160 µL/mL.

Figura 1 - Média dos halos obtidos no teste de difusão em disco com o óleo essencial de *Cymbopogon citratus* frente a *Staphylococcus aureus* (A) e *Escherichia coli* (B)



Fonte: Elaborada pelos autores, 2015.

Os resultados para a atividade frente a *S. aureus* assemelham-se aos obtidos por Adukwu *et al.* (2012), que concluíram que o óleo essencial de *C. flexuosus* possui efeito antimicrobiano, com halos entre 2 e 8 mm, e aos de Millezi *et al.* (2012), que verificaram halos de inibição entre 2 e 5,6 mm para *E. coli* e de 5 a 12 mm para *S. aureus*, utilizando óleo essencial de *C. citratus* em concentrações de 0,5 a 50% (v/v). Schuck *et al.* (2001) obtiveram

halos superiores a 12 mm de diâmetro utilizando óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (composição semelhante ao óleo essencial de *C. flexuosus*) na concentração de 3,5% (v/v) frente a *E. coli* e *S. aureus*. Oussalah *et al.* (2007) verificaram atividade inibitória nos óleos de *C. citratus* e *C. flexuosus* frente a *S. aureus* e *E. coli*, embora com halos menores em comparação com outras plantas testadas.

Conclusões

O óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* apresenta potencial para uso em rações de frangos de corte em substituição aos melhoradores de desempenho. Entretanto, testes toxicológicos e de atividade *in vivo* são necessários.

Agradecimentos

Ao CNPq, à CAPES, à UFMG/PRPq e à Fapemig, pelo apoio financeiro concedido.

Referências

ADUKWU, E. C.; ALLEN, S. C. H.; PHILLIPS, C. A. The anti-biofilm activity of lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) and grapefruit (*Citrus paradisi*) essential oils against five strains of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 113, n. 5, p. 1217-1227, 2012.

MILLEZI, A. F.; CAIXETA, D. S.; ROSSONI, D. F.; CARDOSO, M. G.; PICCOLI, R. H. *In vitro* antimicrobial properties of plant essential oils *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon citratus* and *Laurus nobilis* against five important foodborne pathogens. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n.1, p. 167-172, 2012.

NCCLS. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard**. 6ª Ed. NCCLS document M7-A6. NCCLS, 940. West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania, 19087-1898. United States of America (USA), 2003.

NCCLS. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; fifteenth informational supplement**. CLSI/NCCLS document M100-S15. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005.

OUSSALAH, M.; CAILLET, S.; SAUCIER, L.; LACROIX, M. 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, n. 1, p. 414-420, 2007.

SANTOS, E. C.; TEIXEIRA, A. S.; FREITAS, R. T. F.; RODRIGUES, P. B.; DIAS, E. S.; MURGAS, L. D. S. Uso de aditivos promotores de crescimento sobre o desempenho, características de carcaça e bactérias totais do intestino de frangos de corte. **Ciência Agrotécnica de Lavras**, v. 29, n. 1, p. 223-231, 2005.

SCHUCK, V. J. A.; FRATINI, M.; RAUBER, C. S.; HENRIQUES, A.; SCHAPOVAL, E. E. S. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 1, p. 45-47, 2001.