



ANTIMICROBIANOS NATURAIS: Potencial Bacteriostático do Extrato de Orégano

Carla Klais Maciel¹, Gabrielle Pereira Temporini ¹, Grazielle Mecabô², Anderson Felipe Ferreira², Bárbara Sackser Horvath²



<https://doi.org/10.36557/2674-8169.2024v6n10p3014-3027>

Artigo recebido em 28 de Agosto e publicado em 18 de Outubro

RESUMO

Introdução: Plantas e medicamentos naturais como o extrato de orégano podem se apresentar como um componente promissor no controle de bactérias contaminantes, assim como bom aliado no retardo de bactérias patógenas. **Metodologia:** Trata-se de uma pesquisa qualitativa conduzida no Laboratório de Microbiologia da Universidade Paranaense que visou avaliar o potencial antimicrobiano do extrato de orégano utilizando o meio de cultura ágar nutriente para as cepas de *Escherichia Coli* e *Staphylococcus Aureus* ATCC 022. Foram selecionadas duas marcas distintas dos extratos de orégano, e aplicado o teste em dois grupos com 15 placas de ágar Nutriente, em três diluições diferentes, para cada microrganismo. **Resultados e Discussão:** Ambos os extratos tiveram resultados semelhantes aos dois microrganismos (*Escherichia Coli* e *Staphylococcus Aureus*), mostrando crescimento normal nas diluições utilizando 2 gotas do extrato, enquanto na diluição com 5 gotas houve crescimento reduzido em comparação a primeira diluição. Na diluição de 8 gotas, obteve proliferação somente na borda do meio de cultura, onde não havia presença do extrato, sugerindo potencial bacteriostático. O repique bacteriano revelou crescimento normal de *E.Coli* e *S. aureus*, sugerindo aos extratos efeito não bactericida. **Considerações finais:** Após ter sido realizado o experimento em laboratório, houve divergência dos resultados com os extratos para a bactéria *Staphylococcus Aureus*, mas nas concentrações mais altas do extrato, houve sugestão de ação bacteriostática. A utilização dos extratos demonstrou efeito bacteriostático para a bactéria *Escherichia Coli*. Dessa forma, o fitoterápico é sugestivo como grande aliado no combate a doenças infecciosas devido a seu potencial antimicrobiano.

Palavras-chave: Peptídeos Antimicrobianos; Extratos Vegetais; Extrato de Origanum Vulgare; Fitoterápicos

ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF THE OREGANO EXTRACT

ABSTRACT

Introduction: Plants and natural medicines such as oregano extract can be a promising component in controlling contaminating bacteria, as well as a good ally in delaying pathogenic bacteria. **Methodology:** The present research utilizes the qualitative methodology at the Microbiology Laboratory of the Universidade Paranaense, aiming to evaluate the antimicrobial potential of the oregano extract. It involves using the nutrient agar culture medium for strains of *Escherichia Coli* and *Staphylococcus Aureus* ATCC 022. Two brands were selected, separated from the oregano extracts, and the test was applied in two groups with 15 (fifteen) nutrient agar culture media, in three different dilutions for each microorganism. **Results and Discussions:** Both the selected extracts had similar results for the 2 (two) microorganisms (*Escherichia Coli* and *Staphylococcus Aureus*). On the first dilution, it was used only 2 (two) drops of the extract, showing normal growth of the bacteria. On the second dilution, it was used 5 (five) drops of the extract, showing a reduced growth when compared to the first one. And finally, in the last dilution it was used 8 (eight) drops, in which there was proliferation only at the edge of the culture (in which there was no presence of the extract), suggesting a bacteriostatic potential. Bacterial replication revealed normal growth of *E.Coli* and *S. aureus*, suggesting that the extracts had a non-bactericidal effect. **Final considerations:** After the experiment was finished, the extracts used demonstrated the expected bacteriostatic effect for the *Escherichia Coli* bacteria, while for the *Staphylococcus Aureus* bacteria, there was a discrepancy between the results and the extracts. However, it is worth highlighting that the medical use of the oregano extract can be a great ally in the fight against infectious diseases, as many studies prove its effectiveness.

Keywords: Antimicrobial Peptides; Vegetal Extracts; Origanum Vulgare Extract; Phytotherapeutics.

Instituição afiliada – Universidade Paranaense – UNIPAR.

Autor correspondente: Carla Klais Maciel carla.213579@edu.unipar.br

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).





INTRODUÇÃO

Historicamente plantas e medicamentos naturais são vistos como aliados para tratar doenças. Com a evolução tecnológica, a ciência passou a estudar a fundo quais são os efeitos e como os compostos presentes nas plantas funcionavam e quando poderiam ser aplicados. Diversas indústrias farmacêuticas manifestaram então, interesse em pesquisas a fim de encontrar antimicrobianos de origem vegetal, pois são métodos eficazes e econômicos extraídos de plantas aromáticas e especiarias, contendo óleos essenciais, e conseqüentemente, seu uso tem como finalidade retardar ou inibir a proliferação microbiana (Oliveira, 2021). Devido ao constante aumento dos meios de resistência bacterianos, sendo grande parte oriunda da automedicação, o combate a resistência antimicrobiana acaba se tornando uma grande preocupação da Organização Mundial da Saúde (De Lima, 2017).

O orégano pertence à família Lamiaceae, com 38 espécies pertencentes ao gênero *Origanum*, sendo muito encontradas no Mediterrâneo Oriental e em regiões da Europa e Ásia. É frequentemente utilizado na culinária em todo o mundo, ou ainda na produção de cosméticos, hidratantes e perfumes. Entretanto, seu uso não se restringe somente a esses fins, visto que, ele também demonstra características interessantes para aplicação medicinal. Em sua composição há propriedades antibacterianas como o Y-Terpineno e P-Cimeno, e em maior percentual, o Carvacrol e o Timol, que são responsáveis por afetar a membrana dos microrganismos, fazendo lise dessa célula e assim comprometendo a proliferação celular de bactérias. Timol e carvacrol são dois componentes conhecidos pela sua potente ação antimicrobiana, e ambos estão presentes na composição de óleos e extratos de orégano (Oliveira, 2021). O potencial antimicrobiano constatou que Timol e Carvacrol ocasionam a desintegração da membrana citoplasmática, reduzindo níveis de ATP intracelular e aumento de ATP extracelular, resultando na liberação de lipopolissacarídeos (Almeida, 2015). Dessa forma, óleos essenciais contendo carvacrol e timol em sua composição, se revelaram agentes antibacterianos, antivirais, antidiabéticos e antioxidantes em doenças vasculares, principalmente exercendo atividade bacteriostática frente às cepas de *E.coli* (De Lima; et al., 2017).



Por outro lado, antimicrobianos são substâncias naturais ou sintéticas que agem sobre os microrganismos inibindo seu crescimento ou causando sua destruição. Na classe dos β -lactâmicos estão as Penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos, inibidores de β -lactamases e monobactâmicos, estes têm a ação na parede celular da bactéria, sendo as cefalosporinas a classe mais prescrita em todo o mundo. Para que um antimicrobiano possa exercer sua função, inibindo ou destruindo um microrganismo, ele deve atravessar a parede e a membrana celular da bactéria e então fixar-se em seu alvo. (Scherer; et al., 2017).

METODOLOGIA

A pesquisa de origem qualitativa foi realizada no Laboratório de Microbiologia da Universidade Paranaense, com objetivo de avaliar se há potencial antimicrobiano no extrato de orégano frente a diferentes cepas de bactérias. Os extratos de orégano utilizados foram da marca Bianquímica (1) e RacNature (2). O extrato 1 (Bianquímica), fabricado em 31/03/2023, Lote: 065364/8641, tem validade de 24 meses e uma quantidade de 100ml. O extrato 2 (RacNature), contém 30 ml, fabricado em 03/2023, Lote: 1004, é válido por 24 meses. Foi utilizado o meio de cultura ágar nutriente para as cepas das seguintes bactérias: *Escherichia Coli* e *Staphylococcus Aureus* ATCC 022, cultivadas em meio BHI.

Os extratos foram divididos em grupo 1 e grupo 2, e o procedimento foi o mesmo para as duas marcas. Para a bactéria bacilo gram negativo (*Escherichia Coli*), foram utilizadas 30 placas: duas para controle positivo e negativo, no qual o controle positivo foi semeado somente o microrganismo, e no controle negativo foi utilizado somente o ágar nutriente. No total foram 8 placas em triplicata, utilizando a técnica de semeadura por estrias contínuas. A primeira triplicata (D1) foi adicionado duas gotas de extrato para cada grupo; na segunda triplicata (D2) cinco gotas e, na terceira triplicata (D3), oito gotas do extrato de *Origanum Vulgare*. Também foram utilizadas outras 3 placas de esgotamento (E1, E2 e E3), com o objetivo de isolar as colônias e avaliar o potencial bactericida, utilizando 20 gotas dos extratos após 24 horas de crescimento. Posteriormente, foi realizado o repique após 48 horas da semeadura para avaliar a atividade bactericida do extrato de orégano. O mesmo procedimento foi realizado para a bactéria cocos gram positivo (*Staphylococcus Aureus*).

RESULTADOS

O microrganismo *Escherichia Coli*, em suas diluições da triplicata D1 (2 gotas de orégano Bianquímica) apresentou crescimento normal. A triplicata D2 (5 gotas) apresentou baixo crescimento se comparado com as diluições D1. A terceira triplicata D3 (8 gotas) não demonstrou crescimento na região com o extrato, sendo observado somente nas bordas das placas. O controle positivo apresentou o crescimento esperado da cepa de bactéria. O controle negativo não apresentou crescimento, logo não houve contaminação do meio de cultura. Foi possível observar que na placa de repique, houve crescimento normal da bactéria *E. Coli*, sugerindo que o extrato não possui efeito bactericida. Os resultados obtidos em relação ao extrato 2 (RacNature), frente ao microrganismo *Escherichia Coli*, foram semelhantes ao do extrato anterior. Nas diluições da triplicata D1 (2 gotas do extrato RacNature) foi observado crescimento moderado apenas na diluição D1.1, nas outras placas desta triplicata não houve crescimento bacteriano. Todas as diluições da triplicata D2 (D2.1, D2.2, D2.3), utilizando 5 gotas do extrato, apresentaram crescimento normal da cepa. Por outro lado, nas triplicadas D3, no qual utilizou-se 8 gotas do orégano, apenas a diluição D3.3 não houve proliferação do microrganismo, porém, as demais obtiveram crescimento normal. Por fim, 24 horas após realizado o repique, o mesmo apresentou crescimento normal (Figura 1). Os resultados para a cepa de *Staphylococcus Aureus* foram semelhantes, tendo decréscimo no meio de cultura conforme aumentam as diluições de extrato, além disso, o resultado final após 24 horas de repique, obteve crescimento positivo.

Figura 1: Análise da ação bacteriostática em função das diluições dos extratos em meio de cultura.

MICROORGANISMO	MEIO DE CULTURA + EXTRATO	CONCENTRAÇÃO EXTRATO	ANÁLISE DO CRESCIMENTO
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ágar nutriente + Extrato Bianquímica	2 gotas	+++



<i>Staphylococcus aureus</i>	Ágar nutriente + Extrato Bianquímica	5 gotas	++
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ágar nutriente + Extrato Bianquímica	8 gotas	+
<i>Escherichia Coli</i>	Ágar nutriente + Extrato Bianquímica	2 gotas	+++
<i>Escherichia Coli</i>	Ágar nutriente + Extrato Bianquímica	5 gotas	++
<i>Escherichia Coli</i>	Ágar nutriente + Extrato Bianquímica	8 gotas	+
Controle Positivo Extrato Bianquímica	Ágar nutriente	-	+++
Controle Negativo Extrato Bianquímica	Ágar nutriente	-	Ausência de crescimento
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ágar nutriente + Extrato RacNature	2 gotas	+++
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ágar nutriente + Extrato RacNature	5 gotas	++
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ágar nutriente + Extrato RacNature	8 gotas	+



<i>Escherichia Coli</i>	Ágar nutriente + Extrato RacNature	2 gotas	+++
<i>Escherichia Coli</i>	Ágar nutriente + Extrato RacNature	5 gotas	++
<i>Escherichia Coli</i>	Ágar nutriente + Extrato RacNature	8 gotas	+
Controle Positivo Extrato RacNature	Ágar nutriente + Extrato RacNature	-	+++
Controle Negativo Extrato RacNature	Ágar nutriente + Extrato RacNature	-	-

Fonte: Os autores

Figura 2: Análise do potencial bactericida em função das diluições dos extratos em meio de cultura.

<i>Staphylococcus aureus</i> (após 24 horas de incubação)	Ágar nutriente + Extrato Bianquímica	20 gotas	+++
<i>Escherichia Coli</i> (após 24 horas de incubação)	Ágar nutriente + Extrato Bianquímica	20 gotas	+++
<i>Staphylococcus aureus</i> (após 24 horas de incubação)	Ágar nutriente + Extrato RacNature	20 gotas	+++
<i>Escherichia Coli</i> (após 24 horas de incubação)	Ágar nutriente + Extrato RacNature	20 gotas	+++

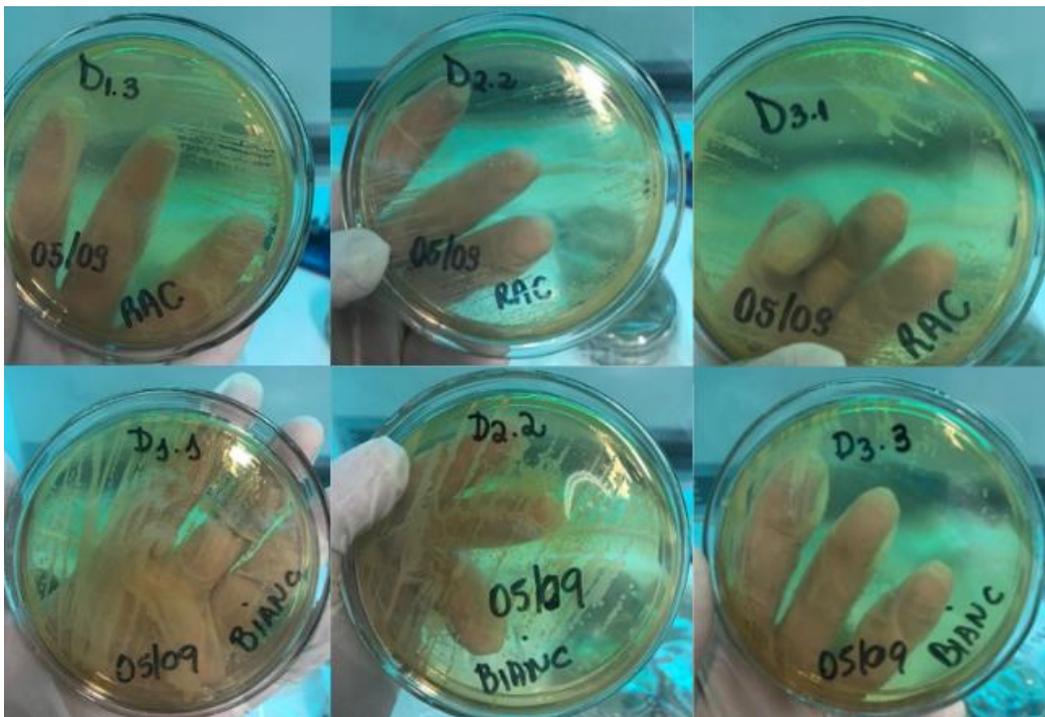
Fonte: Os autores

Figura 3: Análise da ação bacteriostática dos extratos em função do crescimento.



Fonte: Os autores.

Figura 4: Análise da ação bactericida dos extratos em função do crescimento.



Fonte: autoria própria



Diversas bactérias causam problemas de ordem econômica e de saúde pública, sendo assim, a espécie *Escherichia coli*, considerada bactéria gram negativa é um dos mais versáteis encontrados na natureza, em consequência da frequente precariedade das condições higiênico sanitárias da produção de alimentos, que sua presença se dá principalmente por contato com material fecal ou superfícies contaminadas. Outra espécie patogênica comum é *Staphylococcus aureus*, presente em humanos e animais, na mucosa nasofaríngea, formando grande parte da microbiota normal (Millezzi, 2016).

O uso de extrato de orégano no controle de bactérias como aliadas para tratar doenças foi implantado nas indústrias pelo fato desses antimicrobianos de origem vegetal conter atividades para retardar a proliferação microbiana (Oliveira, 2021). O estudo realizado no ano de 2016 no Instituto Biológico, do autor Marcio Martins de Araújo, a primeira etapa para avaliar o potencial antimicrobiano do extrato foi realizada a técnica da macrodiluição, evidenciando, assim, o poder bactericida que o extrato desempenha. O estudo também relatou que o extrato de orégano na concentração de 3,125 µL/mL foi capaz de inibir cepas de *E. coli* e *S. Aureus*.

Dessa forma, a análise da efetividade do *O. vulgare* na inibição da proliferação de *E. coli* e *S. Aureus* demonstrou atividade bacteriostática e bactericida eficazes para cepas em concentrações acima ou iguais a 25 µL/mL (Araujo; Longo; 2016). Em contrapartida, no experimento realizado no Laboratório de Microbiologia da Unipar foi possível observar crescimento normal nas placas de repique da bactéria *E. Coli* e *S.aureus*, indicando que a amostra utilizada não possui efeito bactericida. Porém, as diluições contendo maior quantidade em gotas de extrato resultou em uma menor proliferação da cepa, indicando a eficácia do produto. Outro estudo relevante realizado por Mohamed H. et al a respeito do “*Origanum vulgare* como potencial nano emulsão tópica antiacne,” publicado em 2018, relatou sobre o impacto do uso do extrato e o aparecimento da acne *P. acnes* e *S. epidermis*, onde após quatro horas de aplicação, houve redução significativa dessas infecções. Nesse sentido, o autor Márcio Martins de Araujo em seu artigo sobre “*In vitro* Antibacterial Activity of *Origanum vulgare* essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* strains”, publicado em 2016, reconhece o orégano como uma espécie vegetal contendo propriedades terapêuticas. A ênfase do estudo mostrou a avaliação do uso do extrato de orégano agindo sobre as cepas de *E. coli* e *S. aureus*, através de métodos de macrodiluição e microdiluição em



caldo. Conclui-se que a efetividade do *O. vulgare* (orégano) apresentou atividade bacteriostática, ou seja, inibindo o crescimento bacteriano *in vitro*, e bactericida (eliminação bacteriana) eficaz para as cepas.

No estudo de P.A. Pimenta *et al.*, 2024, foram utilizadas as cepas de ATCC 25922 (*E. coli*), ATCC 25923 (*S. aureus*), ATCC 27853 (*P. aeruginosa*) e ATCC 10231 (*C. albicans*), semeadas em ágar Brain Heart Infusion (BHI) e a fúngica foi semeada em caldo tioglicolato. O inóculo foi preparado adicionando-se uma colônia isolada do microrganismo no meio de cultura, a 37°C durante 24 horas. Os inóculos foram ajustados por turbidez para 1 e 3 x 10⁸ unidades formadoras de colônias (UFC)/mL (determinado espectrofotometricamente no comprimento de onda 660nm com absorbância entre 0,08 e 0,11, utilizando o equipamento Specord 200 Plus Analytik Jena). Neste estudo foi observado que, o extrato de orégano conseguiu inibir *C. albicans* a partir de uma concentração de 0,312%, *E. coli* a partir de 0,625% e *S. aureus* a partir de 1,25%. Na concentração mais baixa testada, não houve crescimento de *P.aeruginosa*, portanto, a concentração inibitória mínima foi definida como sendo inferior a 1,562 µL mL⁻¹ (< 0,156%) (Pimenta; *et al.*, 2024).

Vale ressaltar que a automedicação é uma prática frequente e observada na população, onde são utilizados remédios sem prescrição médica, e muitas vezes associados a outros medicamentos, o que pode anular o efeito do fármaco ou mascarar doenças mais graves. Infecções virais, fúngicas e bacterianas quando não tratadas corretamente podem resultar em uma resistência bacteriana (Leite; *et al.*, 2024). O uso indiscriminado de antibacterianos pode originar bactérias multirresistentes, que são aquelas não suscetíveis a, pelo menos, um agente em três ou mais categorias de antimicrobianos (Moreno; *et al.*, 2019). A sepse por sua vez, é uma resposta inflamatória sistêmica desencadeada por uma infecção, que representa grande relevância em termos de saúde pública (Siqueira, *et al.*, 2011). Segundo o estudo realizado em 2022, por Rodrigues N. *et al*, entre os anos de 2010 a 2019, o registro de óbitos por sepse no Brasil foi de 463 mil. Do total, 51,4% eram do sexo masculino e 48,6% do sexo feminino, e a faixa etária com maior taxa de óbitos foi em idosos (≥ 60 anos), com 112,9 óbitos por 100 mil habitantes (Rodrigues; *et al.*, 2022).



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ambos os extratos de orégano apresentaram potencial bacteriostático no experimento utilizando a cepa *Escherichia Coli*. Além disso, ao repicar a bactéria após 48 horas de incubação na estufa, percebe-se que houve a proliferação da cepa de *E. Coli*, sugerindo que os extratos não possuem o efeito bactericida.

Por outro lado, ao utilizar a cepa *Staphylococcus Aureus*, há uma divergência de crescimento em relação ao experimento anterior, onde na primeira diluição não houveram mudanças, mas nas diluições iguais ou superiores a 5 gotas do extrato reduziram a cepa significativamente em relação a diluição anterior, sugerindo eficácia do fitoterápico com potencial bacteriostático; para ambos os extratos.

Diante do exposto, a implantação de fitoterápicos e medicamentos naturais como o extrato de orégano na saúde, podem ser uma alternativa positiva no combate a bactérias patógenas, sendo necessário mais estudos e pesquisas de validação sobre a eficácia deste composto, mas o potencial bacteriostático sugere que o fitoterápico possa ser um grande aliado no tratamento de doenças infecciosas.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Regiamara Ribeiro. **Mecanismos de ação dos monoterpenos aromáticos: timol e carvacrol**. São João del-Rei: Universidade Federal de São João del-Rei, 2015.

ARAUJO, Márcio Martins de; LONGO, Priscila Larcher. **Teste da ação antibacteriana in vitro de óleo essencial comercial de *Origanum vulgare* (orégano) diante das cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus***. Arquivos do Instituto Biológico, v. 83, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/1808-1657000702014>.

DE LIMA, Dijaci Santos; et al. **Estudo da atividade antibacteriana dos monoterpenos timol e carvacrol contra cepas de *Escherichia coli* produtoras de β -lactamases de amplo espectro**. Revista Pan-Amazônica de Saúde, v. 8, n. 1, p. 5-5, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.5123/s2176-62232017000100003>.



DE SOUZA MOREIRA, Bianca; AZOLA, Juliana da Silva Menezes; GOUVÊA, Cibele Marli Cação Paiva. **Marcadores moleculares para identificação e caracterização do potencial patogênico de Escherichia coli e Staphylococcus aureus.** SaBios-Revista de Saúde e Biologia, v. 13, n. 1, p. 41-52, 2018.

LEITE, Lucimary; et al. **Uso indiscriminado de antibióticos e o risco de resistência bacteriana: revisão de literatura.** Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences, v. 6, n. 1, p. 438–452, 2024. DOI: <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2024v6n1p438-452>.

MILLEZZI, Alessandra Farias; et al. **Sensibilidade de bactérias patogênicas em alimentos a óleos essenciais de plantas medicinais e condimentares.** Higiene Alimentar, São Paulo-SP, v. 30, n. 254/255, p. 117-122, 2016.

MORENO, Diego; et al. **Consumo de antimicrobianos e o impacto na resistência bacteriana em um hospital público do estado do Pará, Brasil, de 2012 a 2016.** Revista Pan-Amazônica de Saúde, v. 10, 2019.

OLIVEIRA, Amanda Cristina Dias de. **O uso de extrato de orégano (Origanum vulgare) no controle de bactérias da fermentação etanólica a partir de cana-de-açúcar.** 2021.

Pimenta, Priscila Abreu; et al. **Avaliação da atividade antimicrobiana e potencial conservante do óleo essencial de orégano (Origanum vulgare).** Scientia Plena, v. 20, n. 2, 2024. DOI: <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2024.026201>.

RODRIGUES, Nyara; et al. **Análise de tendência de mortalidade por sepse no Brasil e por regiões de 2010 a 2019.** Revista de saúde pública/Revista de Saúde Pública, v. 56, p. 25–25, 2022. DOI: <https://doi.org/10.11606/s1518-8787.2022056003789>.

SCHERER, Carolina; et al. **Mecanismos de ação de antimicrobianos e resistência bacteriana.** Revista de Educação Continuada em Dermatologia e Alergologia Veterinária4(13); 12-20, 2017.



SIQUEIRA, Batista Rodrigo; et al. **Sepse: atualidades e perspectivas**. Revista brasileira de terapia intensiva, v. 23, n. 2, p. 207–216, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-507X2011000200014>.

TALAPKO, Jasminka; et al. **Candida albicans – os fatores de virulência e manifestações clínicas da infecção**. Revista de Fungos, v. 7, n. 2, pág. 79, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof7020079>.

WIJESUNDARA, N. M.; Rupasinghe. H. P. V. **Essential oils from Origanum vulgare and Salvia officinalis exhibit antibacterial and anti-biofilm activities against Streptococcus pyogenes**. Microbial Pathogenesis, 117, 118-127, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.02.026>.