

**ESTUDO DA INTERFERÊNCIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CAPIM-LIMÃO E
SÁLVA SOBRE A ATIVIDADE ANTIMICROBIANA FRENTE À UMA CEPA
CLÍNICA DE *Proteus mirabilis***

**STUDY OF THE INTERFERENCE OF ESSENTIAL OILS OF CAPIM-LIMON AND
SÁLVA ON THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY IN FRONT OF A CLINICAL CEPA
OF *Proteus mirabilis***

Matheus dos Santos Conti

Lisandra Vicentini Viviani¹

Janice Maria Ribeiro Dias²

RESUMO

Convenientemente, plantas medicinais têm demonstrado efeitos benéficos à saúde a partir de seus princípios ativos, sendo muitas vezes utilizadas como uma opção de tratamento para diversas doenças. Sua utilização estende-se desde os primórdios até hoje, de forma cultural, sendo passada de geração a geração. Devido essa forte influência cultural e à falta de informação, indivíduos já em tratamento têm utilizado da medicina alternativa junto a antimicrobianos comerciais, que podem também promover, de forma antagônica, efeitos adversos prejudiciais à saúde e ao tratamento. A partir do problema em questão, o presente trabalho objetivou-se avaliar a interferência de óleos essenciais de sálvia (*Salvia officinalis*) e capim-limão (*Cymbopogon citratus*) sobre o efeito de cinco antibióticos comerciais (Ciprofloxacino, Ceftriaxona, Gentamicina, Azitromicina e Sulfazotrim). Diante do exposto, os óleos essenciais analisados apresentaram ação sinérgica, com capacidade de exercer uma maior ação interferente sobre a atividade antibacteriana dos antibióticos Sulfazotrim e Azitromicina, evidenciando uma maior sensibilidade tanto em ensaios com os óleos essenciais, de forma isolada, como no uso combinado dos antibióticos e óleos essenciais.

Palavras-Chave: Óleos essenciais. Atividade antimicrobiana. *Proteus mirabilis*. Sinergismo.

¹ Graduados e Biomedicina pela Faculdade Multivix Cachoeiro de Itapemirim

² Doutora em Genética e Melhoramento, Mestrado em Produção Vegetal e Graduação em Ciências Biológicas pela UENF. Professor da Faculdade Multivix Cachoeiro de Itapemirim.

ABSTRACT

Conveniently, medicinal plants have demonstrated beneficial effects to health from their active principles and are often used as a treatment option for various diseases. Its use extends from the beginnings to today, in a cultural way, being passed from generation to generation. Because of this strong cultural influence and lack of information, individuals already under treatment have used alternative medicine together with commercial antimicrobials, which can also antagonistically promote adverse health effects and treatment. The objective of this study was to evaluate the effect of five commercial antibiotics (Ciprofloxacin, Ceftriaxone, Gentamicin, Azithromycin and Sulfazotrim) on *Salvia officinalis* and *Lemongrass* (*Cymbopogum citratus*). The essential oils analyzed were capable of exerting a greater interfering action on the antibacterial activity of the antibiotics Sulfazotrim and Azithromycin, evidencing a greater sensitivity both in essays with the essential oils, in isolation, and in the combined use of antibiotics and essential oils.

Keywords: Essential oils. Antimicrobial activity. *Proteus mirabilis*. Synergism.

1 INTRODUÇÃO

A existência de bactérias resistentes a múltiplos antimicrobianos já é conhecida, trazendo um grande desafio no tratamento das infecções provocadas pelas mesmas. Por isso torna-se necessário encontrar novas substâncias que contenham propriedades antimicrobianas para serem utilizadas em futuros tratamentos, sendo estas substancias provenientes de produtos naturais que ofereçam menos efeitos colaterais e riscos à saúde (DI STASI, 1996).

A utilização das plantas medicinais em favor da saúde tem evoluído ao longo dos anos, com grande utilidade desde os primórdios, se estendendo até os dias atuais com a indústria farmacêutica (VENTUROSOSO et al., 2010). Verifica-se, hoje, a presença de princípios ativos em diversas plantas. A administração dessas substâncias tem demonstrado propriedades benéficas ao organismo, proporcionando ao indivíduo doente uma recuperação segura, livre de efeitos colaterais agressivos, baseando em um tratamento natural em variadas fontes de utilização dessas ervas medicinais, seja em forma de chás, cápsulas ou entre outras formas, afim de alcançar o efeito de cura esperado. (ALVES et al., 2000; PESSINI et al., 2003).

As crescentes infecções bacterianas causadas por bactérias multirresistentes, e sua resposta aos antibióticos pouco eficazes, estimularam diversos estudos apresentando as ervas medicinais e seus óleos essenciais, como armas antimicrobianas. Essas propriedades têm se tornado prioridade em pesquisas no mundo todo. (HAMMER et al., 1999).

O Brasil possui uma rica diversidade de fauna e flora, e traz, de forma cultural pelos nossos ancestrais, a utilização de plantas medicinais em favor da saúde. Sabe-se que, tais ervas têm propriedades benéficas que atuam contra os mais variados problemas como dores, verminoses, infecções bacterianas e fúngicas, entre outros. Devido à essa forte influência cultural, indivíduos quando doentes utilizam essa medicina alternativa, para manter a saúde. Na falta de informação, as ministrações de ambos os medicamentos podem trazer efeitos benéficos ou maléficos podendo agravar ainda mais a enfermidade, dificultando o tratamento e verificado em decorrência ao efeito antagônico demonstrado por ambos os princípios ativos. (NASCIMENTO et al., 2000).

Nesta pesquisa objetivou-se avaliar o sinergismo e o antagonismo dos óleos essenciais de sálvia e capim-limão em relação aos antimicrobianos comerciais, frente à cepa clínica de uma bactéria multirresistente denominada *Proteus mirabilis*. Adicionalmente, demonstrar se as propriedades dessas plantas podem alterar o efeito dos antimicrobianos comerciais, tanto beneficemente quanto maleficamente. E dessa forma, verificar se o uso dessas plantas pode favorecer ou retardar o desenvolvimento da resistência desses antimicrobianos, além de, em outros casos, avaliar se sua ação pode inibir de forma considerável em relação a seu efeito normal.

1.1 A Utilização das Plantas Medicinais

As propriedades fitoterápicas foram descobertas ao acaso. Assim, através da extração de seus princípios ativos foi possível a produção de fármacos com princípios antimicrobianos. Essa descoberta representa um grande passo para a medicina, atuando como interessante alternativa no meio de uma crescente resistência das bactérias em relação aos antimicrobianos comerciais. Sendo assim, faz-se necessário o estudo desses princípios ativos de forma a serem utilizados pela sociedade com

mais benefícios e efeitos menos agressivos à saúde. (LORENZI; MATOS, 2008; MATOS, et al., 2008).

Segundo Gaspar (2008), o desenvolvimento da fitoterapia iniciou-se na prática indígena, sendo dessa forma um conhecimento aprofundado e transferido de geração em geração. Através de conhecimentos adquiridos ao longo dos anos por demais cientistas, o extrato dessas plantas fitoterápicas vem sendo estudado e tem demonstrado eficácia no controle de diversas doenças. Contudo, a ação medicinal de determinadas plantas é evidenciada apenas quando utilizada corretamente, pois há uma provável ação tóxica em porções inadequadas, que é desconhecida. Isto decorre da administração incorreta, que conseqüentemente não promove o efeito desejado. Por isso deve ser utilizada única e verdadeiramente para meios medicinais com a orientação de um médico. (LORENZI; MATOS, 2008; CANSIAN, 2017).

Nesse sentido, se mostra importante o desenvolvimento de pesquisas e estudos mais aprofundados sobre as propriedades fitoterápicas, uma vez que as informações e conhecimentos atuais sobre a maioria das plantas ainda é insuficiente.

2 CAPIM-LIMÃO E SÁLVIA: CARACTERÍSTICAS, CLASSIFICAÇÃO E UTILIZAÇÃO NA MEDICINA

Dentre variadas espécies com propriedades fitoterápicas, o *Cymbopogum citratus* é uma importante espécie pertencente à família Poaceae, popularmente chamado como: Capim-limão, capim-cheiroso, capim-cidreira, entre outros nomes. Possui inúmeras aplicações como, por exemplo, a infusão, os extratos e os chás, que são preparados através de suas folhas frescas ou já secas. Tal espécie é utilizada extensivamente na medicina popular ou medicina alternativa por possuir compostos utilizados contra gripes, dores de cabeça, disenteria, atuando ainda como calmante e anti-espasmódico, além de apresentar considerável atividade antimicrobiana, antiinflamatório de dutos urinários, diurético, anti-cardiopática, antitérmico, diaforético e antialérgico. (LORENZI; MATOS, 2008).

Produz cerca de 0.5% de óleo essencial com atividade antimicrobiana e é constituído principalmente por citral e mirceno. Por outro lado, a *Salvia officinalis*, espécie locada

na família Lamiaceae é um arbusto perene e cespitoso, nativo da região mediterrânea e sua família inclui cerca de mais de 900 espécies. (LORENZI; MATOS, 2008).

Popularmente conhecida como sálvia, salva-dos-jardins, salva-ordinária, entre outros nomes. Seu óleo essencial sabidamente tem propriedade antibacteriana e adicionalmente, possui propriedades fitoterápicas benéficas para o tratamento de tosse e irritações do trato respiratório. Destaca-se em sua composição química a presença de óleos essenciais ricos em terpeno (50% tuiona, 15% de cineol, borneol e ácido ursólico) substância estrogênica, saponinas, flavonoides, taninos, ácido rosmarínico e glicosídeos diterpênicos. (LORENZI; MATOS, 2008; COULADIS et al., 2002).

2.1. Microorganismo de Interesse Clínico e Perfil de Resistência Antimicrobiana

Por possuir a capacidade de se mutar tornando-se cada vez mais forte e de difícil combate, esta bactéria recebeu o nome de *Proteus mirabilis*, que é o nome de um deus grego que mudou sua forma para evitar a captura. A formação de linha de Dienes e a potente atividade de urease, são consideradas características exclusivas e peculiares de *Proteus mirabilis*. (HIMPSL et al., 2008; ARMBRUSTER; MOBLEY, 2013).

Trata-se de uma bactéria Gram-negativa, dimórfica e motil pertencente à família *Enterobactériaceae*. Esta bactéria é mais comum em mulheres devido o canal excretor ser muito próximo ao canal vaginal. No entanto, pode também infectar homens causando nestes uma inflamação prostática conhecida como Prostatite, ocasionando febre, calafrios e próstata macia. (LANCASTER, 1970; HIMPSL et al., 2008; ARMBRUSTER; MOBLEY, 2013).

Este patógeno é causador de inúmeras infecções do trato urinário e caracterizada por um difícil tratamento. Em adição, esse microorganismo é considerado um dos principais causadores de CAUTIs (infecções do trato urinário associadas ao cateter), além de urolitíase, pielonefrite e prostatite. Por ser flagelada e conhecida pela sua capacidade de aglutinação e alta produção de ureases, está amplamente difundida

em toda a natureza: solo, água, trato intestinal ou esgoto. (LIPPMAN, 1985; HIMPSL et al., 2008; ARMBRUSTER; MOBLEY, 2013).

Proteus mirabilis apresenta diversos fatores de virulência que contribuem para o estabelecimento de infecções do trato urinário em diversas UTI's (Unidade de Terapia Intensiva). Isso porque, através de suas fímbrias, a mesma que pode fazer ligações no cateter ou no interior do sistema urinário. (HIMPSL et al., 2008; ARMBRUSTER; MOBLEY, 2013; VALERIANO, 2017).

Um dos fatores principais para o resultado de virulência de *Proteus mirabilis* é a sua grande capacidade de mobilidade. No interior do trato urinário, a bactéria possui mecanismos para eliminar nutrientes e acionar a resposta imune do hospedeiro sendo capaz de expressar fímbrias (para aderência) e flagelos (para mobilidade quando precisa ascender no trato urinário), acometendo os rins do hospedeiro. (MAGALHÃES et al., 1997; HIMPSL et al., 2008; ARMBRUSTER; MOBLEY, 2013).

Através de seus movimentos flagelares a bactéria migra através do cateter, onde posteriormente entra no trato urinário. Para causar a ITU (Infecção do trato urinário) ela adere - se às células uroepiteliais que revestem a bexiga, utilizando de seu mecanismo de proteção para que sobreviva a ação de antibióticos no ambiente, podendo até mesmo invadir estas células uroepiteliais para sobreviver de forma intracelular. Adicionalmente, tal bactéria tem a capacidade de formar cálculos urinários, promovendo um ambiente rico em nutriente para si própria. Além disso, é característico dessa bactéria causar perfurações nas pedras urinárias formadas, ocultando-se nessas perfurações e limitando a sua exposição a antibióticos e anticorpos, dificultando ainda mais a resposta ao tratamento. (HIMPSL et al., 2008; KONEMAN, 2008; ARMBRUSTER; MOBLEY, 2013).

Supondo que este paciente faça administração de um antibiótico, como por exemplo, o ciprofloxacino, que pertence à família das quinolonas, ocorrerá um agravamento da infecção, pois *Proteus mirabilis* é altamente resistente à família das quinolonas. Quando resistente, ela se agrega as moléculas enfraquecidas do antibiótico presente na bexiga e garante alta resistência contra o mesmo, intensificando suas camuflagem. Após o tratamento, o bastonete migra pelo ureter chegando aos túbulos renais,

iniciando um quadro de infecção ascendente, conhecida como Pielonefrite ou Glomerulonefrite. (NEWELL; DUKE, 1962; HIMPSL et al., 2008; ARMBRUSTER; MOBLEY, 2013).

Dessa forma, *Proteus mirabilis* pode alcançar a corrente sanguínea através de feridas presentes em pacientes imunodeprimidos, onde conseqüentemente promoverá uma infecção generalizada chamada de sepse, além disso também pode colonizar os pulmões, onde neles promoverá uma pneumonia. Essa pneumonia também pode ser resultante do equipamento de respiração hospitalar contaminado, que incluem febre, calafrios, dor no peito, estertores e tosse. (HIMPSL et al., 2008; ARMBRUSTER; MOBLEY, 2013; PEREIRA, 2017).

Devido sua intensa capacidade de proteção, esta bactéria torna-se cada vez mais resistente a medicamentos, causando graves complicações na infecção. Por isso, com o intuito de combater esta bactéria, cientistas estudam formas de desenvolver novos fármacos para ITU contra *Proteus mirabilis*. Porém, nenhuma estratégia foi capaz de fornecer proteção completa contra ITU's (Infecção do trato urinário) dessa bactéria (HIMPSL et al., 2008; ARMBRUSTER; MOBLEY, 2013; PEREIRA, 2017).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Óleos Essenciais

As amostras de capim-limão (*Cymbopogum citratus*) e sálvia (*Sálvia officinalis*) foram obtidas por meio da compra de óleos essenciais da marca Oshadi®, lote 17-001 (Capim-limão) e 88-191592 (Sálvia), contendo 5 ml cada.

2.2 Obtenção da Amostra Bacteriana

O isolado de *P. mirabilis* foi adquirido em uma amostra de urina de paciente com ITU ascendente, identificado após as provas bioquímicas: Ureia, TSI, Citrato de Simmons e SIM. A amostra de urina foi armazenada em tubo de acrílico sendo resfriada em geladeira por até 24 horas para posterior análise.

Posteriormente, a cultura de *Proteus mirabilis* foi submetida à coloração de Gram para a verificação do perfil morfológico e confirmar o isolamento do microorganismo e ausência de contaminações por outros microorganismos.

A bactéria foi submetida a um estoque em cloreto de sódio a 0,9 % a fim de manter-se a integridade vital da bactéria em estudo. Depois, realizou-se outra ativação onde a mesma foi inoculada no meio BHI líquido de marca KASVI 500g e incubada em estufa bacteriológica a 37 °C por 24h.

Para a inoculação em placa de Petri, utilizou-se o Ágar Cled da marca KASVI 500g. O método utilizado para a semeadura foi por esgotamento ou estrias múltiplas para a obtenção de colônias isoladas da bactéria.

Para identificação correta da bactéria, utilizaram-se as provas bioquímicas para sua distinção das outras classes (espécies) de *Proteus spp.* A diferenciação se deu através de tubos com meios sólidos inclinados: TSI, UREIA e CITRATO (todos de marca KASVI 500g) com o auxílio de meios semi-sólidos, como por exemplo: meio SIM da marca KASVI e concentração de 500g.

2.3 Ensaios de Atividade Antimicrobiana

No intuito de testar o sinergismo dos óleos essenciais frente aos antimicrobianos comerciais, onde a bactéria foi previamente ativada em meio BHI líquido, da marca KASVI e concentração de 500g, por 04 horas, para que posteriormente em meio Muller Hinton já esteja em fase exponencial. Dessa forma, inoculou-se pelo método de esgotamento com o auxílio da alça de Drigalski o isolamento de *Proteus mirabilis* em meio Ágar Muller Hinton de marca KASVI 500 g, método este que promove a semeadura por espalhamento sobre o meio. Ao todo foram preparadas 8 placas de 20 mm com meio Ágar Muller Hinton.

2.3.1 Utilização dos antimicrobianos comerciais

Utilizou-se respectivamente para os ensaios os seguintes antimicrobianos comerciais e suas concentrações: **Sulfazotrim** (SUT – 25 mg) como controle, **Azitromicina** (AZI

– 15 mg), **Ciprofloxacina** (CIP – 5 mg), **Gentamicina** (GEN – 10 mg) e **Ceftriaxona** (CRO – 30 mg).

Primeiramente realizou-se um antibiograma (TSA – Teste de sensibilidade ao antibiótico) no meio Ágar Muller Hinton (Marca KASVI 500 g) como controle, a fim de posteriormente comparar o efeito causado pelos óleos essenciais sobre os antimicrobianos comerciais. O método de inoculação foi o de Spread Plate com o auxílio da alça de Drigalski para crescimento confluyente da bactéria.

Para a obtenção dos resultados, foi medido o diâmetro do halo de inibição em milímetros (mm) com o auxílio de uma régua padrão universal para leitura de TSA. Após o período de 24 horas obteve-se o resultado do mesmo. Os testes foram realizados em duplicata para a confirmação dos resultados.

2.3.2 Manipulação dos discos oleicos e utilização em antimicrobianos comerciais

Após a realização do TSA para o controle, iniciou-se o procedimento para pesquisa do sinergismo ou antagonismo entre os óleos essenciais e os antimicrobianos comerciais.

Foram inoculadas 3 placas de Petri contendo o meio Ágar Muller Hinton: uma para capim-limão, uma para sálvia e uma para capim-limão e sálvia concomitantemente. Posteriormente, preparou-se mais 3 placas de Petri contendo o meio Ágar Muller Hinton: uma placa para os antimicrobianos comerciais em conjunto com o óleo essencial de capim-limão, uma placa para os antimicrobianos comerciais em conjunto com o óleo essencial de sálvia e por último, uma placa para os antimicrobianos comerciais em conjunto com os óleos essenciais de sálvia e capim- limão.

Antes de iniciarem os testes de sinergismo, 9 discos de papel filtro estéril da marca INLAB® foram preparados. O procedimento se deu através da aplicação por pipetagem diretamente nos discos. As porções dos 9 discos foram distribuídas em 03 discos para três placas de Petri estéreis, onde utilizou para controle de atividade antimicrobiana somente dos óleos essenciais frente à bactéria. Dessa forma, foram

utilizados 5 µL de ambos óleos essenciais. Porém, para análise conjunta foram utilizadas 2,5 µL de cada óleo.

Após a preparação dos discos oleicos, os mesmos foram inseridos em suas respectivas placas contendo a bactéria isolada e conservados em estufa bacteriológica (De marca SPLABOR - Modelo SP-101/27) a 37 °C por 24h.

Posteriormente, iniciou-se a pesquisa do sinergismo entre óleos essenciais e os antimicrobianos comerciais frente à cepa de *Proteus mirabilis*. Os testes foram realizados da seguinte forma: uma placa para os antimicrobianos comerciais com a atuação do óleo essencial de capim-limão, uma placa para os antimicrobianos comerciais com a atuação do óleo essencial de sálvia, e por último, uma placa para os antimicrobianos comerciais com a atuação dos óleos essenciais de sálvia e capim limão.

Após serem previamente inoculadas com *Proteus mirabilis* isolado, iniciou-se a aplicação dos óleos essenciais nos discos de antimicrobianos comerciais, previamente ajustados na placa, com o auxílio de uma pipeta ajustável (De marca Single Channel Manual Ajustável Toppette), utilizando 5 µL de forma individual e 2,5 µL quando em conjunto.

Primeiramente, adicionou-se os discos de antimicrobianos comerciais às placas, sendo eles: **Ciprofloxacino**, **Ceftriaxona**, **Gentamicina**, **Azitromicina** e **Sulfazotrim**. Dessa forma, foram utilizados novamente 5 µL de ambos óleos essenciais. Porém, para análise conjunta foram utilizadas 2,5 µL de cada óleo.

Após a aplicação dos óleos essenciais nos discos de antimicrobianos comerciais, as placas foram conservadas em estufa bacteriológica (De marca SPLABOR, Modelo SP101/27) a 37 °C por 24h.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Frente a uma cepa clínica de *Proteus mirabilis*, a presente pesquisa utilizou dois óleos essenciais para teste: De *Sálvia officinalis* e *Cymbopogon citratus*, onde ambos demonstraram capacidade de promover uma ação sinérgica ou antagônica sobre os

antimicrobianos comerciais testados. Dessa forma, agindo satisfatoriamente em todos os cinco antimicrobianos comumente utilizados pela indústria farmacêutica, destacando-se em dois que normalmente não causariam sensibilidade a esta bactéria, a Sulfazotrim e a Azitromicina. Assim, a capacidade sinérgica dos óleos testados conferiu maior eficácia na atividade antimicrobiana desses dois antimicrobianos comerciais em destaque, contribuindo para o combate do microorganismo.

Uma pesquisa desenvolvida na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) avaliou a atividade antimicrobiana do óleo essencial de Capim limão frente às cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* entéricas isoladas de um galináceo (*Gallus domesticus*). Esta utilizou cinco concentrações distintas do óleo essencial, sendo de 80 µL/mL e 160 µL/mL gerando maiores amplitudes no halo de inibição de cada bactéria. A mesma apenas pesquisou a atividade antimicrobiana do óleo essencial. Já a presente pesquisa, utilizou duas concentrações diferentes do óleo essencial de Capim limão, separadamente e concomitantemente a antimicrobianos comerciais, sendo 5 µL (utilizada de forma isolada) e 2,5 µL (utilizada concomitantemente a 2,5 µL de óleo essencial de Sálvia) frente a uma cepa multirresistente de *P. mirabilis*. (EMYGDIO et al., 2005)

A presente pesquisa se atentou a uma possível ação sinérgica ou antagônica promovida pelos princípios ativos de plantas medicinais, quando utilizadas concomitantemente a antimicrobianos comerciais. Dessa forma, apresentando resultados satisfatórios em relação à pesquisa da UFMG, pois além de testar separadamente e concomitantemente os efeitos sinérgicos ou antagônicos promovidos pelos óleos essenciais de Sálvia e Capim limão sobre antimicrobianos comerciais, obteve adicionalmente efeitos sinérgicos e antagônicos promovidos entre si, quando testada a sua atividade antimicrobiana. Dessa forma, gerando maiores amplitudes no halo de inibição da bactéria.

De acordo com o Departamento de Biologia de Taubaté, o óleo essencial de *Salvia officinalis* tem sido estudado para o tratamento de infecções urinárias em testes com enterobactérias causadoras de ITU's. Assim, da mesma forma que a pesquisa desenvolvida na UFMG, os testes estão voltados para a atividade antimicrobiana do óleo essencial estudado, neste caso a *Salvia officinalis*. A bactéria estudada é a

Pseudomonas aeruginosa, isolada frente a uma cepa clínica. Foram coletadas 100 amostras de urinas de pacientes com o mesmo diagnóstico, onde posteriormente foram estriadas em placas contendo Ágar MacConkey e incubadas a 37 °C por 24 horas. Em contrapartida, a presente pesquisa, utilizou uma cepa clínica de *Proteus mirabilis* extraída de apenas 2 amostras de urina coletadas de um único paciente, também com quadro de ITU, sendo posteriormente estriadas em Ágar Muller Hinton e incubadas à 37 °C por 24 horas. (ALVES et al., 2000).

A pesquisa desenvolvida pelo Departamento de Biologia de Taubaté utilizou meios MacConkey (DIFCO), sendo este é um meio destinado para detecção, diferenciação e isolamento de enterobactérias, testando apenas a atividade antimicrobiana do óleo essencial de Sálvia, inoculado 100 uL da cepa sobre a placa e posteriormente introduzido o óleo essencial. Já a presente pesquisa, utilizou outros meios para uma identificação mais específica de *Proteus mirabilis*, distinguindo-o de outras classes (espécies) de *Proteus spp.* através de série bioquímica, como por exemplo: TSI, SIM, Citrato e Ureia (Todos de marca KASVI). Sabidamente, utilizou o meio Ágar Muller Hinton, este por sua vez é específico para a realização de antibiogramas.

A pesquisa do Departamento de Biologia de Taubaté apresentou resultados satisfatórios, demonstrando eficácia da atuação da sálvia contra *Escherichia Coli*, porém contra *Klebsiela spp.* apresentou-se insatisfatória. Já a presente pesquisa, a atuação de sálvia demonstrou resultados satisfatórios em relação à atividade antimicrobiana do óleo essencial, evidenciando sua ação sinérgica ou antagônica frente aos antimicrobianos comerciais, contribuindo para o combate do microorganismo.

4.1 Ensaios de Atividade Antimicrobiana: Controle de Sensibilidade Antimicrobiana a Antibióticos Comerciais

Para determinar a sensibilidade da cepa e posterior comparação frente ao sinergismo, realizou-se primeiramente um TSA controle apenas com os antimicrobianos comerciais.

A tabela 1 demonstra o comportamento da cepa frente aos antimicrobianos comerciais, onde é possível observar que *Proteus mirabilis* apresentou resistência à Sulfazotrim e Azitromicina.

Tabela 1 – Sensibilidade da cepa clínica de *Proteus mirabilis* frente à ação de diferentes antibióticos. Os resultados são expressos em diâmetro de halos de inibição do crescimento microbiano.

	ANTIBIÓTICOS				
	Sulfazotrim (25 mg)	Azitromicina (15 mg)	Ceftriaxona (30 mg)	Ciprofloxacina (5 mg)	Gentamicina (10 mg)
Controle	Resistente	Resistente	40 mm	40 mm	20 mm

Fonte: Dados de pesquisa

Como resultados obtidos pelo TSA com os antimicrobianos comerciais verificou-se resistência a dois antibióticos utilizados rotineiramente, sendo eles a Sulfazotrim e Azitromicina. Inicialmente a utilização da Sulfazotrim foi selecionada como um controle negativo, pois o padrão para sensibilidade está abaixo dos índices exigidos.

Os padrões de inibição de *P. mirabilis* apresentados pelos testes antimicrobianos frente apenas aos óleos essenciais, indicaram resistência ao extrato oléico de *Sálvia officinalis*, sem formação de halo. Já os padrões de inibição apresentados pelo antibiograma frente aos óleos essenciais de *Cymbopogon Citratus* indicaram sensibilidade com formação de halos de 8 – 10 mm. Já os padrões de inibição apresentados pela cepa de *P. mirabilis*. Frente à *Sálvia officinalis* e *Cymbopogon citratus* em conjunto, promoveram um efeito antagônico.

Tomando como padrão de inibição os resultados do antibiograma TSA controle (apenas antimicrobianos comerciais), observou-se que tanto separadamente quanto em conjunto, os extratos oleicos exerceram influência na capacidade de inibição dos antibióticos comerciais, confirmando o objetivo da pesquisa em demonstrar a alteração provocada no tratamento ao se utilizar fitoterápicos em concomitância.

Os resultados apresentados pelo TSA da atuação do extrato oléico de capim-limão sobre os antimicrobianos comerciais, também demonstraram alterações conforme os resultados apresentados na tabela a seguir.

Tabela 2 - Sensibilidade da cepa clínica de *Proteus mirabilis* frente à ação de do extrato oléico de capim-limão sobre antibióticos. Os resultados são expressos em diâmetro de halos de inibição do crescimento microbiano.

		ANTIBIOTICOS				
		Sulfazotrim (25 mg)	Azitromicina (15 mg)	Ceftriaxona (30 mg)	Ciprofloxacina (5 mg)	Gentamicina (10 mg)
Contr ole	Resistente	Resistente	40 mm	40 mm	40 mm	20 mm
Capim Limão	16 mm	20 mm	34 mm	36 mm	36 mm	20 mm

Fonte: Dados de pesquisa.

Os resultados apresentados indicam que houve alteração na capacidade de inibição do antimicrobiano utilizado para controle negativo, que é a Sulfazotrim, agora sendo capaz de promover a sensibilização da bactéria; o mesmo fato ocorreu com a Azitromicina.

O antibiograma (TSA) com a atuação do extrato oléico de sálvia sobre os antimicrobianos, também apresentou alteração no padrão de inibição, conforme os resultados apresentados na tabela a seguir.

Tabela 3 - Sensibilidade da cepa clínica de *Proteus mirabilis* frente à ação de do extrato oléico de sálvia sobre antibióticos. Os resultados são expressos em diâmetro de halos de inibição do crescimento microbiano.

		ANTIBIOTICOS				
		Sulfazotrim (25 mg)	Azitromicina (15 mg)	Ceftriaxona (30 mg)	Ciprofloxacina (5 mg)	Gentamicina (10 mg)
Contr ole	Resistente	Resistente	40 mm	40 mm	40 mm	20 mm
Salvia	8 mm	20 mm	36 mm	40 mm	40 mm	20 mm

Fonte: Dados de pesquisa.

Conforme os resultados apresentados pela tabela 3, observou-se que a atuação do extrato oléico de Sálvia também conferiu capacidade de sensibilização aos antimicrobianos de controle negativo, em relação a Sulfazotrim e a Azitromicina.

Os resultados apresentados pelo TSA da atuação de ambos os extratos oléicos também demonstraram alterações no padrão de inibição, conforme os resultados apresentados na tabela a seguir.

Tabela 4 - Sensibilidade da cepa clínica de *Proteus mirabilis* frente à ação de dos extratos oléicos de sálvia e capim-limão em conjunto sobre antibióticos. Os resultados são expressos em diâmetro de halos de inibição do crescimento microbiano.

	ANTIBIÓTICOS				
	Sulfazotrim (25 mg)	Azitromicina (15 mg)	Ceftriaxona (30 mg)	Ciprofloxacina (5 mg)	Gentamicina (10 mg)
Contr ole	Resistente	Resistente	40 mm	40 mm	20 mm
Capim + Sálvia	18 mm	18 mm	36 mm	40 mm	18 mm

Fonte: Dados de pesquisa.

De acordo com os resultados apresentados pela tabela, observou-se iguais alterações na capacidade de inibição frente aos antimicrobianos que anteriormente apresentavam-se resistentes, a Sulfazotrim e Azitromicina, tornando-se a partir dessa atuação capazes de promover sensibilidade à bactéria.

4 CONCLUSÃO

Os óleos essenciais analisados apresentam capacidade de exercer interferência sobre a atividade antibacteriana dos antibióticos ensaiados.

De acordo com os resultados obtidos, observa-se que ambos os óleos essenciais analisados, e sua ação conjunta, apresentaram capacidade de exercer uma maior ação interferente sobre a atividade antibacteriana de Sulfazotrim e Azitromicina. Esta interferência foi observada principalmente nos ensaios envolvendo o antibiótico

Azitromicina, onde a bactéria *Proteus mirabilis* apresentou uma maior sensibilidade tanto em ensaios com óleos essenciais de forma isolada, como no uso combinado dos antibióticos e óleos essenciais.

Diante do exposto, o uso de produtos de origem vegetal e antibióticos comerciais, concomitantemente, precisa ser investigado de forma criteriosa, já que existe a possibilidade de interferência durante o tratamento com fármacos convencionais.

Novos estudos deverão ser realizados para verificar a resposta de outras bactérias, seja através de um efeito antagônico ou sinérgico dos óleos essenciais.

5 REFERÊNCIAS

ALVES TMA, SILVA AF, BRANDÃO M, GRANDI TSM, SMÂNIA EFA, SMÂNIA JR A, ZANI CL. Biological screening of brazilian medicinal plants. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**; v. 95, p. 367-73; 2000.

ARMBRUSTER EC, MOBLEY TLH. MERGING. **Mythology and morphology: The Multifaceted Lifestyle Of *Proteus mirabilis***. v. 22, p. 1-22, 2013.

CANSIAN, LUÍS. **Atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial**. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/cta/v30n2/14.pdf>>. 2017.

COULADIS, M. et al. Essential oil of ***Salvia officinalis*** L. from Serbia and Montenegro. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 17, n. 2, p. 119-26, 2002.

DI STASI, LUIS C. (org). **Plantas medicinais: arte e ciência um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESCO, 1996.

EMYGDIO F.F.; DANIEL; RONIE M., ERNANE; PEDROSA O., STEPHANIE. NCCLS. **Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informatioal Supplement**, Pennsylvania, USA, 2005.

HAMMER, K.A.; CARSON, C.F.; RILEY, T.V. Susceptibility of transient and commensal skin flora to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). **American Journal of Infection Control**. p. 24, 1996.

HIMPSL, S.D.; LOCKATELL, C.V.; HEBEL, J.R.; JOHNSON, D.E.; MOBLEY, H.L.T. Identification of virulence determinants in uropathogenic *Proteus mirabilis* using signature-tagged mutagenesis. **J. Med. Microbiol.** v. 57, 2008.

L. MATOS, F. J.; ABREU. L.L.; LAURIANO, H. MARTINS. **Plantas medicinais no brasil. Nativas e exóticas**. 2. ed. 2008.

KONEMAN. **Diagnóstico microbiológico**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

LANCASTER R.G. AND. OTHER. Urinary sediment. american society of clinical pathologists. chicago.Illincis. 1. ed. 1970.

LIPPMAN, R.W. **Examen de orina y sua interpretacion**. Barcelona: Editorial Jime, 1985.

LORENZI H, MATOS FJA. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda; p. 544, 2008.

MAGALHÃES, V.D. AND CASTILHO, B.A. MINI-MU insertions in the tetracycline resistance determinant from proteus mirabilis. **Braz J. Med. Biol. Res.**, v.30, n.3, p.363-367, 1997.

NASCIMENTO GF, LOCATELLI J, FREITAS PC, SILVA GL. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Rev. Bras. Microbiol.** v. 31, p. 48-53, 2000.

NEWELL, J.E. E DUKE, E. **Urinalysis and renal function – routine examination**. American Society Of Clinical Pathologists. 1. ed. 1962.

PEREIRA, Rogério. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em microrganismos isolados para o tratamento de infecções do trato urinário. Disponível em: <<http://www.revistas.usp.br/rsp/article/viewFile/31719/33619>>. 2017.

PESSINI GL, HOLETZ FB, SANCHES NR, CORTEZ DAG, DIAS-FILHO BP, NAKAMURA CV. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. **Rev. Bras. Farmacogn.** V. 13, p. 21-24, 2003.

VALERIANO, Caroline. **Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar**. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722012000100009>. 2017.

VENTUROSOSO, L.R. *et al.* Influência de diferentes metodologias de esterilização sobre a atividade antifúngica de extratos aquosos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.12, p.499-505, 2010.