

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA TINTURA E INFUSÃO DE *ORIGANUM VULGARE* (ORÉGANO)

Francine Cristina da Silva¹

Marta Majewski²

Lígia Tiaki Yamamoto³

Antônio Olavo Cardoso Jorge⁴

Cristiane Yumi Koga-Ito⁵

¹Profª. Assistente Microbiologia e Imunologia, Universidade Federal da Bahia - UFBA, Vitória da Conquista-BA

²Mestranda Biopatologia Bucal, Universidade Estadual Paulista – UNESP, São José dos Campos-SP

³Aluna de Graduação da Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista – UNESP, São José dos Campos-SP

⁴Prof. Titular Microbiologia e Imunologia, Universidade Estadual Paulista – UNESP, São José dos Campos-SP

⁵Profª. Doutora Microbiologia e Imunologia, Universidade Estadual Paulista – UNESP, São José dos Campos-SP

SILVA, Francine Cristina da et al. Atividade antimicrobiana da tintura e infusão de *Origanum vulgare* (Orégano). *Salusvita*, Bauru, v. 27, n. 3, p. 353-361, 2008.

RESUMO

O crescente interesse pelo uso de extratos naturais como alternativa na prevenção e tratamento de patologias colocam em discussão as propriedades antimicrobianas de diferentes tipos de especiarias como o *Origanum vulgare* (orégano). O objetivo do estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana da tintura e da infusão preparada com *Origanum vulgare* sobre cepas de *Candida albicans* (ATCC 36802), *Candida tropicalis* (ATCC 13803), *Candida parapsilosis* (ATCC 22019), *Candida krusei* (ATCC 6258), *Candida guilliermondii* (FCF 205), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538). Para avaliação da máxima diluição inibitória (MDI), tubos contendo 50%, 25%, 12,5%, 6%, 3%, 1,5%, 0,75% e 0,3% da tintura ou da infusão em meio de cultura foram contaminados com 0,1 ml de suspensões dos microrganismos padronizadas por espectrofotometria. Os tubos foram incubados a 37°C por 24 horas e após este período, foi realizada a avaliação do crescimento microbiano. Todos os testes foram realizados em duplicata. Os resultados demonstraram que ocorreu crescimento nos meios de cultura inoculados com os microrganismos testados a partir da diluição de

Recebido em: setembro de 2007

Aceito em: novembro de 2007

50% de tintura e da infusão do *Origanum vulgare*. Concluiu-se que as concentrações de tintura e infusão de *Origanum vulgare* analisadas não demonstraram atividade inibitória sobre os microrganismos testados.

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana. *Origanum vulgare*. Fitoterapia.

ABSTRACT

The increasing interest on the use of natural extracts as an alternative in the prevention and treatment of pathologies leads to the discussion on the antimicrobial properties of different types of plants such as Origanum vulgare. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial activity of the tincture and infusion prepared with Origanum vulgare on Candida albicans (ATCC 36802), Candida tropicalis (ATCC 13803), Candida parapsilosis (ATCC22019), Candidakrusei(ATCC6258), Candidaguilliermondii (FCF205), Escherichia coli (ATCC 25922) e Staphylococcus aureus (ATCC 6538). For the evaluation of maximum inhibitory dilution (MID), tubes containing 50%, 25%, 12.5%, 6%, 3%, 1.5%, 0.75% and 0.3% of the tincture or infusion in culture medium were contaminated with 0.1 ml of the standardized suspensions obtained by spectrophotometry. Tubes were incubated at 37°C for 24 h and after this period the evaluation of the microbial growth was performed. All the tests were performed in duplicate. The results demonstrated that all the tested microorganisms grew from the dilution of 50% Origanum vulgare tincture and infusion. It was concluded that the concentrations of Origanum vulgare tincture and infusion analyzed did not demonstrate inhibitory activity on the tested microorganisms.

Key-words: Antimicrobial activity. *Origanum vulgare*. Phytotherapy.

INTRODUÇÃO

O uso de plantas e extratos fitoterápicos acompanha a humanidade desde os tempos mais remotos, alguns povos tal como chineses e egípcios utilizavam com primor as plantas como recurso nos tratamentos terapêuticos e preventivos. Alguns países como o Brasil, que possui uma flora rica e pouco conhecida, investigam a atividade antimicro-

SILVA, Francine Cristina da et al. Atividade antimicrobiana da tintura e infusão de *Origanum vulgare* (Orégano). *Salusvita*, Bauru, v. 27, n. 3, p. 353-361, 2008.

SILVA, Francine
Cristina da et
al. Atividade
antimicrobiana da
tintura e infusão de
Origaum vulgare
(Orégano). *Salusvita*,
Bauru, v. 27, n. 3, p.
353-361, 2008.

biana de algumas plantas sobre alguns microrganismos como bactérias e fungos, principalmente leveduras (SARTORATTO, 2004).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) considera planta medicinal como sendo todo e qualquer vegetal que possua substâncias que possam ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursoras de fármacos semi-sintéticos, no entanto, algumas plantas são consideradas tóxicas e devem ser utilizadas com cautela considerando os riscos que representam para a saúde. Diversas substâncias isoladas de plantas medicinais possuem atividade citotóxica ou genotóxica e mostram relação com incidência de tumores (VEIGA-JÚNIOR, 2005). Durante as décadas passadas, o interesse público em terapias naturais aumentou dramaticamente, ocasionando um consumo exagerado e sem controle, despertando então a atenção e o interesse da indústria farmacêutica que passou a processar esses medicamentos em escala industrial (CALIXTO, 2000).

O aumento de infecções oportunistas entre pacientes imunocomprometidos e o aparecimento de algumas cepas de microrganismos resistentes aos antimicrobianos usualmente administrados, gerou interesse em pesquisas voltadas para agentes fitoterápicos. A combinação de algumas drogas antifúngicas como fluconazol ou cetacozazol com esses agentes fitoterápicos potencializam os efeitos desses medicamentos e podem diminuir os efeitos colaterais e secundários (GIORDANI, 2004).

As propriedades terapêuticas de algumas plantas têm sido utilizadas como anti-sépticas, antifúngicas e antiinflamatórias, sendo a atividade antimicrobiana a de maior interesse médico, em microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos principalmente em leveduras do gênero *Candida* (HAMMER, 1999).

Plantas aromáticas e especiarias são ricas em óleos essenciais caracterizados por notável atividade antimicrobiana e antioxidante, podendo ser utilizados para retardar o crescimento de microrganismos patogênicos (SOUZA, 2001). O *Origanum vulgare* é um condimento aromático originário da Ásia, muito utilizado na culinária grega, francesa e italiana, e também na elaboração de licores, cosméticos e fármacos. A quantidade de metabólitos secundários encontrados no *Origanum vulgare* são derivados fenólicos (carvacrol e timol), que são relacionados a altos níveis de atividade antimicrobiana, sendo o timol o mais ativo (LOZANO, 2004).

Na literatura pouco se conhece sobre a atividade antimicrobiana de *Origanum vulgare*. Tampieri (2005) analisou a eficácia de vários óleos essenciais sobre fungos do gênero *Candida* e relatou que maior atividade inibitória foram das plantas que apresentavam em sua composição as substâncias carvacrol e timol como princípio ativo. Estes

autores relataram efeito fungicida do óleo essencial de *Origanum vulgare* sobre *Candida albicans*.

Bozin (2006) analisou atividade antimicrobiana de vários óleos essenciais sobre cepas bacterianas e fúngicas. Os autores observaram que o óleo essencial de orégano demonstrou uma melhor atividade antimicrobiana comparada a outros óleos essenciais estudados, mesmo frente a cepas multirresistentes de *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. Burt (2006) relatou efetividade antimicrobiana do óleo essencial de *Origanum vulgare* sobre diferentes cepas de *E. coli*.

Leveduras do gênero *Candida* são fungos que causam infecções nas mucosas bucal e vaginal e infecções sistêmicas, embora sejam comensais da microbiota de indivíduos saudáveis, são comumente associados com disfunções imunes em pacientes transplantados e portadores do vírus HIV (EGGIMANN et al. (2003). O agente etiológico mais comum da candidose é *Candida albicans*, entretanto é crescente a incidência de infecções causadas por outras espécies deste gênero, tal como *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, principalmente após o advento da AIDS na década de 80 (WILLIAMS & LEWIS, 2000). *Staphylococcus aureus* pode ser relacionada a infecções sistêmicas graves particularmente em pacientes diabéticos, com AIDS, pós-cirúrgicos, sob hemodiálise e doenças crônicas de base como tumores malignos e cardiopatias (DAVID et al., 2005; GÖTZ, 2004). A emergência de isolados resistentes aos antimicrobianos tais como cepas resistentes à metilina (MRSA) tem sido relatada na literatura (SMITH, 2003). Enterobactérias são um grupo de patógenos importantes nas infecções hospitalares e também na comunidade e a resistência aos antibióticos destas cepas tem se tornado muito comum (Motta et al., 2003). A ocorrência de resistência a antibióticos, particularmente os β -lactâmicos, tem sido bastante relatada em *E. coli* (NAVEEN & MATHAI, 2005).

O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana de tintura e infusão de *Origanum vulgare*.

MATERIAL E MÉTODO

Para a verificação da atividade antimicrobiana de compostos de *Origanum vulgare*, foi utilizada tintura adquirida comercialmente (Farmaciantiga, São José dos Campos, SP), e infusão de folhas desidratadas de *Origanum vulgare* (Kitano, São Paulo-SP, Brasil). A infusão foi obtida a partir da imersão de 100 g de folhas desidratadas de *Origanum vulgare* em água destilada esterilizada aquecida a 100°C, cujo tempo de imersão foi de 10 minutos. O produto da

SILVA, Francine Cristina da et al. Atividade antimicrobiana da tintura e infusão de *Origanum vulgare* (Orégano). *Salusvita*, Bauru, v. 27, n. 3, p. 353-361, 2008.

SILVA, Francine
Cristina da et
al. Atividade
antimicrobiana da
tintura e infusão de
Origaum vulgare
(Orégano). *Salusvita*,
Bauru, v. 27, n. 3, p.
353-361, 2008.

imersão foi esterilizado através da filtração em membranas para esterilização de 0,22 µm (Spritz-Filter, TPP, Switzerland).

Para a realização do estudo foram utilizadas amostras padrão de *Candida albicans* (ATCC 36802), *Candida tropicalis* (ATCC 13803), *Candida parapsilosis* (ATCC 22019), *Candida krusei* (ATCC 6258), *Candida guilliermondii* (FCF205), que foram semeadas em placas de Petri contendo agar Sabouraud dextrose (Difco, Detroit, USA) e amostras padrão de *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), que foram semeadas em Tryptic soy agar (Difco, Detroit, USA). As amostras foram incubadas durante 24 horas a 37°C.

Após o período de incubação, foram obtidas suspensões padronizadas de 1×10^6 células/mL de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *C. albicans* em espectrofotômetro (Shinadzu modelo UV-1203, Kyoto - Japan). As densidades ópticas e comprimentos de onda utilizados na espectrofotometria foram previamente estabelecidos no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Odontologia UNESP - São José dos Campos, conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Comprimento de onda e densidades ópticas utilizados para obtenção das suspensões contendo 1×10^6 células/ml dos microrganismos utilizados

Microrganismos	Comprimento de onda	Densidade óptica
<i>Staphylococcus aureus</i>	490 nm	0,374
<i>Escherichia coli</i>	590 nm	0,324
<i>Candida albicans</i>	530 nm	0,284

Foram obtidas diluições de 50%, 25%, 12,5%, 6%, 3%, 1,5%, 0,75% e 0,3% da tintura e da infusão em tubos contendo meio de cultura caldo Sabouraud dextrose (Difco, Detroit, USA) ou Tryptic soy broth (Difco, Detroit, USA), conforme o microrganismo a ser testado, em duplicata. Os tubos contendo as diluições foram inoculados com 0,1 mL das suspensões padronizadas. Foram incluídos também tubos controle de crescimento que continham apenas o meio de cultura sem tintura ou infusão. Em seguida, os tubos foram incubados durante 24 horas a 37°C. Após este período, leituras do valor da máxima diluição inibitória (MDI) foram realizadas, considerando-se a turvação dos tubos.

A seguir, 0,1 mL do conteúdo dos tubos foram semeados em placas de Petri contendo ágar Sabouraud dextrose (Difco, Detroit, USA) ou Tryptic soy ágar (Difco, Detroit, USA) e as placas foram incubadas durante 24 horas a 37°C. Após o período de incubação, as placas foram observadas para a determinação dos valores de máxima diluição fungicida/bactericida (MDF ou MDB). A partir das colônias que se

desenvolveram em cada placa, foram obtidos esfregaços, os quais foram corados pelo método de Gram para confirmação microscópica.

RESULTADOS

Observou-se crescimento de todos os microrganismos testados a partir da diluição de 50% tanto da tintura como da infusão de *Origanum vulgare*.

DISCUSSÃO

As qualidades antimicrobianas de plantas aromáticas e medicinais, e seus extratos são reconhecidos como terapêuticos desde a antiguidade. Muitos componentes dessas plantas, principalmente o óleo obtido por destilação, apresentam atividade frente a diversos microrganismos. Esses agentes fitoterápicos são preparados nas formas líquida, sólida, viscosa ou na forma de gel, e podem ser obtidos por maceração, percolação ou destilação (obtenção do óleo essencial) e misturados com álcool ou água destilada sendo muitas vezes concentrado para promover o efeito esperado (CALIXTO, 2000). No presente estudo foi utilizada tintura e infusão das folhas desidratadas de *Origanum vulgare*, obtendo-se o extrato concentrado da planta. Estas formas foram selecionadas, pois são as mais frequentemente empregadas para o uso caseiro.

Plantas que possuem em sua estrutura componentes fenólicos tal como o carvacrol e timol possuem atividade antimicrobiana de características bacteriostáticas e bactericidas, motivo que despertou interesse na análise da atividade antimicrobiana da tintura e da infusão de *Origanum vulgare*, já que a planta possui componentes desta natureza.

Diversos autores relataram atividade antimicrobiana dos componentes de *Origanum vulgare*. Giordani (2006) observou que os componentes fenólicos responsáveis pela atividade antimicrobiana do *Origanum vulgare* se devem à presença do carvacrol nesta planta. Lambert (2001) mencionou em seu estudo que as substâncias encontradas no *Origanum vulgare* alteram a permeabilidade da membrana celular bacteriana. Além do efeito antimicrobiano do *Origanum vulgare* descrito anteriormente, esta planta exhibe outras propriedades terapêuticas, consideradas antioxidante e estrogênica, utilizada também na lavoura como inseticida contra insetos na lavoura (NURMI, 2006).

SILVA, Francine Cristina da et al. Atividade antimicrobiana da tintura e infusão de *Origanum vulgare* (Orégano). *Salusvita*, Bauru, v. 27, n. 3, p. 353-361, 2008.

SILVA, Francine
Cristina da et
al. Atividade
antimicrobiana da
tintura e infusão de
Origaum vulgare
(Orégano). *Salusvita*,
Bauru, v. 27, n. 3, p.
353-361, 2008.

No entanto, no presente estudo pôde-se observar que a tintura e a infusão de orégano não demonstraram atividade antimicrobiana frente aos microrganismos testados. Embora este estudo não tenha utilizado o óleo essencial, existem relatos sobre a falta de efetividade antimicrobiana do óleo essencial de *Origanum vulgare* sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. (DORMAN (2000).

Por outro lado, os resultados da atividade antifúngica diferiram de estudos na literatura, que relatam eficiência dos componentes e do óleo essencial de *Origanum vulgare* sobre leveduras do gênero *Candida*. Tampieri (2005) e Bozin (2006) relataram efeito fungicida do óleo essencial de *Origanum vulgare* sobre *Candida albicans*.

O estudo foi relevante principalmente por demonstrar que diferentes formas de elaboração das plantas e especiarias como o *Origanum vulgare*, podem ser utilizadas com finalidades antimicrobianas de maneira errônea por aqueles que levam em consideração somente à atividade antimicrobiana demonstrada pelos componentes do óleo essencial e de outras formas. Deve-se salientar que antes da indicação de qualquer forma de elaboração de produtos naturais como plantas e especiarias, é importante considerar estudos que comprovem a verdadeira eficácia de seus componentes ativos.

CONCLUSÃO

Concluiu-se que as concentrações de tintura e infusão de *Origanum vulgare* analisadas não apresentaram atividade antimicrobiana nas condições testadas.

REFERÊNCIAS

BOZIN, B.; MIMICA, D.N.; SIMIN, N.; ANACKOV, G. Characterization of the volatile composition of essential oils of some lamiaceae species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *J Agric Food Chem*, v. 54, n. 5, p.1822-8, 2006.

BURT, S.A.; REINDERS, R.D. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli*. *Letters in Applied Microb*, v. 36 p.162, 2003.

CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Braz J Med Biol Res*, v. 33, n. 2, p. 179-89, 2000.

DAVID, M.; BAMBERGER, D.M.; BOYD, S.E. Management of *Staphylococcus aureus* infections. Am Fam Physician, v. 72, n.12, p. 2474-81, 2005.

DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J of Applied Microb, v.88, p. 308-316, 2000.

EGGIMANN, P.; GARBINO, J.; PITTET, D. Management of *Candida* species infections in critically ill patients. Lancet Infect Dis, v.3, n.12, p.772-85, 2003.

GIORDANI, R.; REGLI, P.; KALONSTIAS, J.; MIKAIL, C.; ABOU, L.; PORTUGAL, H. Antifungal effect of various essential oils against *Candida albicans*. Potential of antifungal action of Amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. Phytotherapy Res, v. 18, p. 990-995, 2004.

GÖTZ, F. Staphylococci in colonization and disease: prospective targets for drugs and vaccines. Curr Opin Microbiol, v. 7, n. 5, p. 477-87, 2004.

HAMMER, K.A.; CARSON, C.F.; RILELY, T.V. Antifungal effects of Melaleuca alternifolia oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. J of Antim Chemot. v. 53, p.1081-85, 2004.

LAMBERT, R.J.W. ; SKANDAMIS, P.N. ; COOTE, P.J. ; NYCAS, G.J.E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. J of Applied Microb. v. 91, p. 453-62, 2001.

LOZANO, A.C.C.; PINA, L.G.; URIBE, S.L.; MEJIA, E.G. El orégano: propiedades y actividad biológica de sus componentes. Alan, v. 54, n. 1, p. 100-11, 2004.

MOTTA, R.N. et al. Plasmid-mediated extended-spectrum β -lactamase producing strains of Enterobacteriaceae isolated from diabetes foot infections in Brazilian Diabetic Center. Braz J Infect Dis, v. 7, n. 2, p. 129-34, 2003.

NAVEEN, R.; MATHAI, E. Some virulence characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* in different patient groups. Int J Med Res, v.122, p. 2, p.143-7, 2005.

NURMI, A.; MURSU, J.; NURMI, T.; NYSSONEN, K.; ALFTHAN, G.; HILTUNEN, R.; KAIKKONEN, J.; SALONEN, J.T.; VOUTILAINEN, S. Consumption of juice fortified with extract markedly increases excretion of phenolic acids but lacks short- and

SILVA, Francine Cristina da et al. Atividade antimicrobiana da tintura e infusão de *Origaum vulgare* (Orégano). *Salusvita*, Bauru, v. 27, n. 3, p. 353-361, 2008.

SILVA, Francine
Cristina da et
al. Atividade
antimicrobiana da
tintura e infusão de
Origaum vulgare
(Orégano). *Salusvita*,
Bauru, v. 27, n. 3, p.
353-361, 2008.

long-term effects on lipid peroxidation in healthy nonsmoking men. *J Agric Food Chem*, v. 54, n. 16, p. 5790-6, 2006.

SARTORATTO, A; MACHADO, A.L.; DELARMELINA, C et al. Composition and antimicrobial activity of essential oils aromatic plants used in Brazil. *Braz J Microbiol*, v. 35, n. 4, p. 275-280, 2004.

SMITH, A.J.; BREWER, A.; KIRKPATRICK, P.; JACKSON M.S.; YOUNG, J.; WATSON, S. et al. Efficacy of oral hygiene products against MRSA and MSSA isolates. *J Antimicrob Chemother*, v. 54, n. 4, p. 738-739, 2003.

SOUZA, E.L.; STAMFORD, T.L.M.; LIMA, O. E.; TRAJANO, V.N. ; FILHO, J.M.B. Orégano (*Origanum vulgare*, *Lamiaceae*): uma espécie como potencial fonte de compostos antimicrobianos. *Rev Hig Alim*, v.19, n. 132, p. 40-5, 2005.

TAMPIERI, M.P.; GALLUPI, R.; MACCHIONI, F.; CARELLE, M.S.; FALCIONE, L.; CIONI, P.L.; MORELLI, I. The inhibition of *Candida albicans* by selected essential oils and their major components. *Mycopathologia*, v. 159, n. 3, p. 339-45, 2005.

VEIGA-JUNIOR, V. F.; PINTO, A.C.; MACIEL, M.A.M. Plantas medicinais : cura segura? *Quim Nova*, v. 28, n. 3, P. 519-528, 2005.

WILLIAMS, D.W.; LEWIS, M.A.O. Isolation and identification of *Candida* from the oral cavity. *Oral Dis*, v. 6, p. 3-11, 2000.