

Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* de óleo essencial de alho sobre bactérias patogênicas

Rafaella Lidia dos Santos Moreno Aguiar

Resumo: Por definição, condimentos e especiarias são produtos de origem vegetal empregados principalmente para conferir sabor aos alimentos. Além desta utilidade possuem também propriedades antimicrobianas, antioxidantes e medicinais e existem aproximadamente 70 condimentos diferentes, cultivados e utilizados em todo o mundo. A atividade terapêutica do alho pode combater patologias endócrinas e cardiovasculares, como anti-neoplásico, antimicrobiano, anti-helmíntico, antioxidante e também no sistema imunológico. Extrato oleoso do alho (*Allium sativum*) foi testado quanto à atividade antimicrobiana *in vitro* sobre *Enterococcus faecium*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Achromobacter xylosoxidans* utilizando-se a técnica de plaqueamento em réplica em Agar Sangue contendo discos embebidos com óleo essencial de alho. Houve ação antimicrobiana do extrato oleoso do alho apenas com o microrganismo *Escherichia coli* apresentando-se sensível com halo de 20 mm. Os demais microrganismos apresentaram-se resistentes ao óleo.

Abstract: By definition, condiments and spices are products of plant origin used primarily to give flavor to foods. In addition to this utility also have antimicrobial properties, antioxidants and herbs and there are approximately 70 different seasonings, cultivated and used around the world. The therapeutic activity of garlic can combat endocrine and cardiovascular pathologies, such as anti-neoplastic, antimicrobial, anti-helminthic, antioxidant and also on the immune system. Oily extract of garlic (*Allium sativum*) has been tested for antimicrobial activity *in vitro* on *Enterococcus faecium*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Achromobacter xylosoxidans* using the technique of plating in replica in blood agar containing disks saturated with essential oil of garlic. There Antimicrobial action of oily extract of garlic only with the micro-organism *Escherichia coli* presenting sensitive with halo of 20 mm. The other organisms were resistant to oil.

Introdução

Por definição, condimentos e especiarias são produtos de origem vegetal empregados principalmente para conferir sabor aos alimentos. Além desta utilidade possuem também propriedades antimicrobianas, antioxidantes e medicinais e existem aproximadamente 70 condimentos diferentes, cultivados e utilizados em todo o mundo (SHELF, 1983).

Os temperos ou condimentos, utilizados como ingredientes na preparação de alimentos, desempenham importante papel em decorrência do aumento no consumo de produtos industrializados. A indústria alimentícia utiliza normalmente condimentos preparados, prontos para uso, que podem ser obtidos pela simples mistura de substâncias naturais ou elaborados com a adição ou não de substâncias alimentícias. Estes condimentos apresentam-se sob a forma de pó, pasta ou molho, em emulsão ou suspensão (SÃO PAULO, 1978).

Os condimentos assim como as especiarias, sob o ponto de vista microbiológico, em contato com umidade e temperatura adequadas podem sofrer ataque de bolores ou microrganismos que propiciam a deterioração do alimento, acarretando moléstias ao consumidor. No entanto, alguns apresentam atividade antimicrobiana, que pode ajudar na conservação de alimentos, e outros ainda estimulam o metabolismo microbiano, tornando mais rápida a alteração e/ou formação de toxinas (ICMSF, 1980).

Ozcan & Erkmen (2001) destacam o interesse generalizado em descobrir novos agentes antimicrobianos, devido ao alarmante aumento de microrganismos resistentes aos antibióticos disponíveis.

De acordo com Katzung (2003) e Marchiori, (2008), a atividade terapêutica do alho pode combater patologias endócrinas e cardiovasculares, como anti-neoplásico, antimicrobiano, anti-helmíntico, antioxidante e também no sistema imunológico.

O presente estudo propõe avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana de óleo essencial de alho sobre bactérias patogênicas.

1. Revisão Bibliográfica

1.1 Alho (*Allium sativum*)

O alho, *Allium sativum*, é um antigo conhecido não apenas da culinária, mas também da medicina alternativa. É muito utilizado como tempero e conservas caseiras, e também em unguentos, chás, pomadas caseiras, entre outros.

As plantas medicinais são utilizadas desde os tempos mais remotos e apresentam grande importância para o desenvolvimento de pesquisas, como para possível substituição de medicamentos comerciais de alto custo (APOLINÁRIO *et al*,2008).

A procura por produtos alternativos e naturais têm aumentado muito, proporcionando o aumento de pesquisas, desenvolvimento e produção de medicamentos a partir dos mesmos. Muitos estudos têm relatado vários efeitos experimentais favoráveis das preparações de alho, inclusive seu extrato. (OLIVEIRA, 2007)

O *Allium sativum* consta na relação das plantas medicinais recomendadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) por meio da Resolução – RDC nº 17, de 24 de fevereiro de 2000, coincidindo a maioria das indicações (Tabela 1).

Nome Popular	Nome Científico	Parte Usada	Formas de Uso	Indicação Terapêutica	Dose Diária	Vias de Administração
Alho	<i>Allium sativum</i> L.	Bulbo	Bulbo fresco ou seco, tintura, óleo, extrato seco	Coadjuvante no tratamento de hiperdislipidemia e hipertensão arterial leve; prevenção da aterosclerose	- Bulbo seco: 0,4-1,2g - Bulbo fresco: 2-4g - Tintura: 6-12ml - Óleo: 2-5mg - Extrato: 300-1000mg	Oral

Tabela 1: Alho recomendado pela ANVISA. (ANVISA, 2000).

O alho é da família liliáceas. Uma planta assexuada que se acredita que tenha origem asiática. (BONTEMPO, 2007). É uma planta herbácea anual que necessita de clima frio para seu crescimento adequado.

O alho é uma hortaliça formada por um bulbo, conhecida popularmente como “cabeça” e é composto por 10 a 12 bulbilhos ou popularmente como “dentes” envoltos por uma casca que pode ser branca (Figura 1), rosa (Figura 2) ou roxa (Figura 3).

A partir do bulbo a planta (Figura 4) apresenta um talo longo e fino e no seu extremo localiza-se uma flor que pode ser branca ou avermelhada (Figura 5) (OLIVEIRA, 2007).



Figura 1: Bulbo de cor branca. Acesso: http://asetwerethekau.blogspot.com.br/2011_02_01_archive.html



Figura 2: Bulbo de cor rosa. Acesso: <http://blog-do-caminho.blogspot.com.br/2012/05/os-poderes-do-alho.html>



Figura 3: Bulbo com cor roxa. Acesso: <http://claudiokruger.blogspot.com.br/p/receitas.html>



Figura 4: Planta e bulbo. Acesso: http://www.tudosobreplantas.com.br/plantas/Allium_sativum.htm



Figura 5: Flor do alho de cor branca. Acesso: <https://www.flickr.com/groups/13609085@N00/pool/page2/?view=lg>

Mesmo com o uso diário do alho em preparações culinárias, sua importância nutritiva é reduzida por ser utilizado apenas como condimento, em pequenas quantidades (MARCHIORI, 2008.). De acordo com Katzung et al. (2003), já foram identificados cerca de 30 componentes do alho na atualidade que apresentam efeito terapêutico.

Componentes Nutritivos do alho	
Calorias (kcal)	138,92
Proteínas (g)	6,05
Lipídeos (g)	0,12
Carboidratos (g)	28,41
Cálcio (mg)	38,00
Ferro (mg)	1,40
Fósforo (mg)	134,00
Selênio (µg)	5,69
Alfa-tocoferol (µg)	10,00
Vitamina C	14,00

Tabela 2: Componentes Nutritivos do Alho. Fonte: Marchiori, 2008

A característica mais marcante do alho é o seu cheiro e este se deve à presença da alicina (óleo volátil sulfuroso). Quando amassamos ou trituramos o alho, as células são quebradas liberando o cheiro característico do alho (OLIVEIRA, 2007).

Os componentes sulfurados são liberados quando o alho é amassado, por isso há orientações do consumo logo após o preparo, pois as concentrações dos fitoquímicos sulfurados em questão caem. O alho contém compostos químicos complexos, sendo que muitos ainda não foram identificados (MARCHIORI, 2008).

Marchiori (2008) identifica centenas de fitoquímicos bioativos, sendo os de maior destaque os componentes sulfurados, presentes no alho em quantidade três vezes maior do que em outros vegetais também ricos nestes compostos.

Compostos sulfurados do alho	
Composto	Possível atividade biológica
Aliina	Hipotensor, hipoglicemiante
Ajoeno (ajocisteína)	Prevenção de coágulos, antiinflamatório, vasodilatador, hipotensor, antibiótico
Alicina e tiosulfinatos	Antibiótica, antifúngica, antiviral
Alil maercaptano	hipocolesterolemiantes
S-alil-cisteína e compostos γ -glutâmico	Hipocolesterolemiantes, antioxidante, quimioprotetor frente ao câncer
Sulfeto dialil	Hipocolesterolemiantes

Tabela 3: Compostos sulfurados do alho. Fonte: Marchiori, 2008

Compostos não sulfurados do alho	
Composto	Possível atividade biológica
Adenosina	Vasodilatadora, hipotensora, miorelaxante
Fructanos (Escorodosa)	Cardioprotetora
Fração protéica F-4	Imunoestimulante
Quercetina	Antialérgica
Saponinas (gitonina F, eurobósido B)	Hipotensora, antimicrobiana
Escordinina	Hipotensora, aumenta a utilização de B1, antibacteriana
Selênio	Antioxidante
Ácidos fenólicos	Antiviral e antibacteriana
Saponinas	Anticancerígena*

Tabela 4: Compostos não sulfurados do alho. Fonte: Marchiori, 2008

1.2 Sistemas antimicrobianos naturais

Desde os primeiros registros históricos, extratos vegetais de plantas aromáticas têm sido utilizados com diferentes fins em alimentos, medicamentos e cosméticos. Os óleos essenciais (OEs), além de apresentarem atividade antioxidante e anti-inflamatória são considerados como os agentes antimicrobianos mais importantes presentes nas plantas (BAJPAI *et al.*, 2008).

Há uma pressão da indústria de alimentos para que sejam removidos completamente os conservantes químicos ou que se adotem alternativas naturais para preservação do tempo de vida dos produtos alimentícios. Entre muitas alternativas encontram-se os Sistemas Antimicrobianos naturais, que poderiam ser usados no lugar de outras substâncias consideradas como não naturais (TASSOU *et al.*;1995).

Com a difusão das modernas técnicas de preservação, as pesquisas sobre a atividade antimicrobiana das plantas se haviam tornado esporádicas, mas nesta década, porém, pôde-se observar um interesse renovado pela atividade antimicrobiana dos condimentos. Admite-se agora que os condimentos e ervas podem ter mais que uma função em alimentos nos quais são adicionados. Em adição à propriedade aromatizante, certos condimentos prolongam a vida útil de estocagem de alimentos por sua atividade bacteriostática e bactericida, prevenindo o começo da deterioração e o crescimento de microorganismos indesejáveis (SHELF, 1983).

A atividade citotóxica dos OEs é atribuída à presença de compostos fenólicos, aldeídos, terpenos, alcoóis alifáticos, cetonas, ácidos e isoflavanóides (Figura 1). Os componentes fenólicos são citados como os principais responsáveis pelas propriedades antibacterianas desses óleos, porém há relatos de que compostos não fenólicos, como o alil-isotiocianato, são mais efetivos contra bactérias Gram-negativas, além de também serem efetivos contra fungos (TURINA *et al.*,2006).

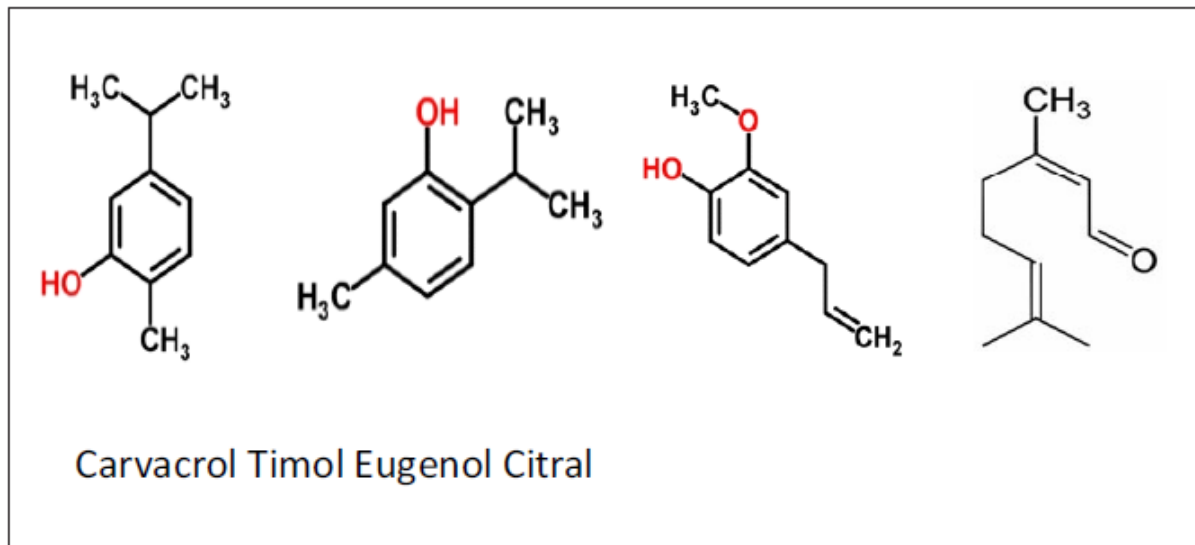


Figura 6: Estrutura química de agentes antimicrobianos encontrados em plantas.

Várias pesquisas relataram a eficácia de OEs de plantas como agentes antimicrobianos contra a microbiota, deterioradora e patogênica, veiculada por alimentos (BUSATTA *et al.*, 2008).

1.3 Atividade antimicrobiana *in vitro*

De acordo com Brooks *et al.* (2005) a atividade antimicrobiana é medida *in vitro* para determinar a potência do antimicrobiano em solução, a sua concentração nos líquidos ou tecidos corporais e a sensibilidade de determinado microrganismo a concentrações conhecidas do medicamento.

O objetivo da utilização de medicamentos antimicrobianos é de matar ou inibir o microrganismo sem afetar o hospedeiro, no entanto os mesmos interferem de várias maneiras na atividade da célula bacteriana, causando a morte ou somente inibindo o seu crescimento.

Os primeiros são chamados de bactericidas e os segundos de bacteriostáticos. Embora os antimicrobianos sejam divididos nas duas categorias, algumas drogas, normalmente bactericidas podem ser bacteriostáticas ou vice-versa. Por exemplo, o cloranfenicol é bacteriostático por excelência, mas funciona como bactericida para o *Haemophilus influenzae*

e o *Streptococcus pneumoniae*, já as penicilinas são bactericidas típicas que também funcionam como bacteriostáticas (TRABULSI e ALTERTHUM, 2008).

Sobre as drogas bacteriostáticas, de acordo com Levinson & Jawetz (2007) as bactérias podem crescer novamente quando a droga é suprimida e os mecanismos de defesa do hospedeiro, como a fagocitose, são necessários para matar a bactéria. Já as drogas bactericidas são úteis apenas em certas infecções, em geral, naquelas que há risco de vida e quando as drogas bacteriostáticas não produzem a cura.

1.4 Fatores que afetam a atividade antimicrobiana

Há vários fatores que podem afetar a atividade antimicrobiana influenciando os resultados dos testes, como o pH, componentes do meio de cultura, estabilidade do fármaco como temperatura de incubação, tamanho do inóculo, tempo de incubação e atividade metabólica dos microrganismos (BROOKS *et al.* 2005).

1.5 Atividade antimicrobiana do Alho (*Allium sativum*)

Diferentes espécies de *Allium* ssp. dentre as cercas de 500 descritas, entre elas os diferentes bulbos, cebolas e o alho propriamente dito, os tipos foliares como o “nira”, são empregados largamente como alimentos, como condimentos ou especiarias, ou mesmo como medicamentos, mormente no hemisfério norte. Estas plantas constituem uma fonte abundante de saponinas esferoidais, de alcalóides, bem como de compostos sulfurosos (ARAUJO, 2007).

O uso medicinal dos diferentes tipos de alho como antimicrobianos é destacado por Cellini *et al.* (1996), atribuindo à alicina, um componente sulfuroso, a intensa atividade descrita. Ancri & Mirelmann (1999) reforçaram estas observações, ressaltando a ação significativa sobre amostras de *Escherichia coli* enterotoxigênicas, multidroga-resistentes. Leuchner & Zamparini (2002) relatam que a adição de 1% de bulbo de alho à maionese conseguiu reduzir a concentração de células viáveis de *Salmonella enteritidis* durante três dias, por um fator

logarítmico, mas aplicando-se o método de isolamento do agente em 25 gramas de amostra, constataram a presença constante da *Salmonella* spp. nas amostras testadas durante 10 dias de estocagem à 25°C., comprovando o estado de bacteriostasia ou de latência do agente no alimento. Neste sentido a legislação brasileira (BRASIL, 2001), segundo as normas vigentes, determina a ausência de *Salmonella* spp. no alimento ingerido para produzir uma enfermidade toxinfetativa em uma pessoa sensível.

Kruger (2006) isolaram bactérias que ocorrem naturalmente no alho comercializado, identificando-as como *Leuconostoc mesenteroides* sbsp. *Mesenteroides*. Estas bactérias apresentaram resistência à atividade antimicrobiana do alho e cresceram e sobreviveram em meio de cultura com até 10% dessa planta.

1.6 Microrganismos e alimentos

Antigamente o ser humano tinha sua alimentação baseada apenas nos recursos da natureza, e com o surgimento de alimentos de preparação própria começaram a surgir problemas relacionados com doenças transmitidas por alimentos. Há várias fontes de contaminação como solo e água, plantas, utensílios domésticos, trato intestinal do homem e de animais, ração animal, pele dos animais, ar e pó e até os manipuladores de alimentos (FRANCO e LANDGRAF, 2003).

Com o tempo foram criadas técnicas diferenciadas para conservação dos alimentos, dentre elas as mais simples como salga e neve para conservação de carnes, e as mais complexas como a apertização descoberta por L. Spallanzani e aperfeiçoada por N. Appert, hoje conhecida com os alimentos enlatados, e a pasteurização descoberta pelo médico francês L. Pasteur (FRANCO e LANDGRAF, 2003).

Os microrganismos são normalmente conhecidos como maléficos, mas são importantes em vários aspectos para os alimentos, como a deterioração microbiana que é conseqüência da atividade metabólica natural do microrganismo, e as alterações benéficas em um alimento como na fabricação de alimentos fermentados (FRANCO e LANDGRAF, 2003).

1.7 Doenças transmitidas por Alimentos

Os alimentos de origem animal são os que mais frequentemente são associados a intoxicação alimentar. A maioria das doenças alimentares é causada por agentes biológicos e constituem um dos problemas de saúde mais comuns. Elas são classificadas em infecção, intoxicação ou infecção mediada por toxina (BAPTISTA e ANTUNES, 2005).

Os microrganismos normalmente encontrados nesses alimentos, por sua proliferação ou por produzirem toxinas, ocasionam o quadro clínico da doença. Para que isso ocorra o microrganismo tem que estar em quantidade suficiente para causar uma infecção ou produção de toxinas ou que o alimento esteja em condições de sustentar o crescimento bacteriano, como temperatura, tempo etc. (BAPTISTA e ANTUNES, 2005).

1.8 Microrganismos Patogênicos

1.8.1 *Staphylococcus aureus*

De acordo com Levinson & Jawetz (2007), Trabulsi & Alterthum (2008) e Brooks *et al.* (2005), os *S. aureus* são bactérias patogênicas anaeróbias, cocos esféricos Gram-positivos, imóveis, não formam esporos, aparecem em aglomerados em forma de cachos de uva irregulares, produzem catalase, que é um importante fator de virulência e coagulase (enzima que causa a coagulação do plasma por ativação da protombina) que o diferencia das outras espécies. Crescem bem a 37°C e em pH em torno de 7.0. A intoxicação causada por alimento contendo enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* é um dos tipos mais comuns de doença de origem alimentar em todo o mundo.

1.8.2 *Escherichia coli*

São bactérias patogênicas, anaeróbias facultativas, bacilos Gram-negativos, temperatura ótima para crescimento é de 37°C e pH 7.0, normalmente encontrados na flora normal e acidentalmente provocam doenças. São responsáveis por 90% das primeiras infecções do trato urinário em mulheres jovens, e a infecção do trato urinário pode resultar em bacteremia, com sinais clínicos de sepse. (BROOKS, *et al.* 2005; LEVINSON & JAWETZ, 2007).

1.8.3 *Achromobacter xylooxidans*

São bacilos Gram-negativos aeróbios estritos não fermentadores, sacarolíticos capazes de utilizar a glicose e a xilose, além de ser oxidase e catalase positiva e lactose negativa. Pertencem à microbiota humana causando infecções oportunistas e infecções em pacientes imunocomprometidos, tanto local quanto sistêmica. (TRABULSI, 2008; LUCATELLI *et al.*, 2009; MARTINS, 2011; MANTOVANI 2011).

De acordo com Martins (2011) e Mantovani (2011) a *Achromobacter xylooxidans* está distribuída em vários ecossistemas naturais e relacionada à infecção nosocomial, como bacteremia, meningites, pneumonia e peritonites. É multiresistente a vários antibióticos que normalmente são administrados no tratamento de infecção pulmonar em pacientes com fibrose cística.

1.8.4 *Acinetobacter baumannii*

São cocobacilos Gram-negativos aeróbios estritos não fermentadores e não esporulados, sacarolíticas e apresentam formas diplocócicas. É encontrado na água e solo úmido, podendo ser encontrado na microbiota normal humana com crescimento em torno de 44°C. *Acinetobacter baumannii* é encontrada em ambiente hospitalar com propensão para desenvolvimento de resistência antimicrobiana extremamente rápida, logo tornando-se

multirresistente podendo causar principalmente pneumonias em paciente com Fibrose Cística. (ALTERTHUM e TRABULSI, 2008; PONTES, 2006; CARNEIRO & SARIDAKIS, 2008).

1.8.5 *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*

São cocos Gram-positivos aos pares ou em pequenas cadeias. O *E. faecalis* tornou-se um dos agentes mais importantes de infecção hospitalar e compreendem cerca de 80% a 85% das amostras de enterococos isoladas de material clínico. A espécie *E. faecium* é a segunda maior frequência entre os enterococos isolados de espécimes clínicos. (ALTERTHUM e TRABULSI, 2008)

O *E. faecalis* tem capacidade em crescer em condições variadas de temperatura e de pH e é membro da microbiota normal do trato intestinal podendo ser encontrado facilmente em alimentos, na água, no solo e no meio ambiente em geral. (ALTERTHUM e TRABULSI, 2008)

1.8.6 *Klebsiella pneumoniae*

A *Klebsiella pneumoniae* é um bacilo Gram-negativo envolvido principalmente em infecções hospitalares causando na maioria dos casos pneumonia, bacteremias e infecções em outros órgãos e frequentemente causa infecções em pacientes imunocomprometidos. O bacilo está presente no trato gastrointestinal de indivíduos normais. (ALTERTHUM e TRABULSI, 2008; PEREIRA et al. 2003)

São bactérias produtoras de betalactamases de espectro estendido o que resulta em multirresistência à antibacterianos como cefalosporinas (PEREIRA et al. 2003).

1.8.7 *Sphingomonas*

São bacilos Gram-negativos aeróbios estritos que decompõem compostos aromáticos. *S. paucimobilis* (anteriormente *Pseudomonas*) é encontrada na água e no solo. As *Sphingomonas* são bastante utilizadas em ambiente de agricultura, como em degradação de PCP (Pentaclorofenol) e na área de indústrias, como na produção de gomas com melhor qualidade despertando interesse das indústrias de alimentos, farmacêutica e petroquímica. (ALTERTHUM e TRABULSI, 2008; DAMS, 2007 BERWANGER *et al.* 2007)

2. Materiais e Métodos

2.1 Amostras Vegetais

As amostras de alho (*Allium sativum* L.) foram coletadas no comércio da cidade de Catanduva-SP na região de São José de Rio Preto-SP. As amostras de alho foram conduzidas ao Laboratório de Química e Microbiologia da União das Faculdades dos Grandes Lagos (UNILAGO) de São José de Rio Preto-SP.

2.2 Preparo do Extrato Vegetal

Os bulbos de alho (*Allium sativum* L.) foram descascados e cortados em pequenos pedaços.

2.3 Obtenção do Extrato Oleoso

Após processamento mínimo, os pedaços de alho foram embebidos em hexano por três dias (maceração). Foi preparado 1 quilo de alho e utilizado 1 litro de hexano.

Após a maceração, o alho foi separado do hexano já contendo a fração oleosa. Os resíduos (bagaço) derivados da maceração a frio do alho em hexano foram prensados mecanicamente para a obtenção do extrato oleoso retido nos mesmos.

A mistura (hexano com a fração oleosa) foi levada para o evaporador rotativo, com a finalidade de separação da fração oleosa do hexano, com utilização de temperatura de 75° C por 2 horas. Após o processo, o extrato oleoso foi adicionado em um Becker e levado ao banho-maria a 60°C por 2 horas com o objetivo de eliminação de possíveis resíduos do composto químico.

O extrato oleoso do alho foi armazenado em frasco de vidro âmbar vedado conservando-o contra fatores externos do meio.

2.4 Obtenção dos Microrganismos

Os microrganismos utilizados *Enterococcus faecium*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Achromobacter xylosoxidans* foram cedidas pela Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP).

2.5 Ensaio de resistência aos óleos essenciais do alho

Para esta prova foram utilizados inóculo padronizados de 07 microrganismos, previamente crescidos a 37°C, por 24 horas, em caldo nutriente. Os mesmos foram inoculados pela técnica de plaqueamento em réplica, em Ágar Sangue, contendo discos embebidos com o óleo essencial do alho. Todas as placas semeadas posteriormente foram incubadas a 37°C, por 24 e 48 horas, com a finalidade de se verificar a resistência ou não dos microrganismos frente ao óleo testado.

3. Resultados e Discussão

ARORA e KAUR (1999) relataram que o tamanho do halo de inibição indica a maior ou menor suscetibilidade dos microrganismos frente às substâncias inibidoras. Classificaram os halos de inibição com base no tamanho do diâmetro (incluindo o diâmetro do disco de papel filtro), sendo os valores menores que 7mm considerados não-ativos contra os microrganismos testados. Os halos de inibição de 12mm de diâmetro ou maiores foram considerados como os de melhor efeito inibitório provocado pelo óleo essencial testado.

Microrganismos	Halo
<i>Enterococcus faecium</i>	Resistente
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Resistente
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Resistente
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Resistente
<i>Escherichia coli</i>	Sensível
<i>Staphylococcus aureus</i>	Resistente
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	Resistente

Tabela 5: Relação de microrganismos testados em relação a sua sensibilidade ao óleo de alho (*Allium sativum* L.)

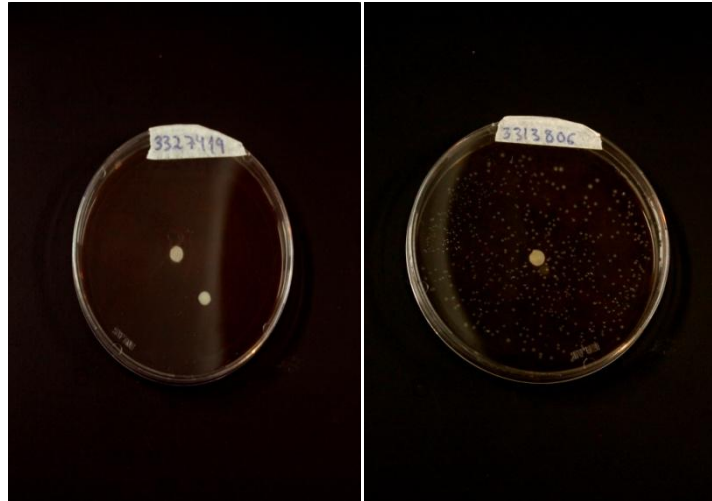


Figura 7: Placas com inóculo em Agar Sangue

De acordo com os resultados apresentados pela Tabela 5 e Figura 7 observou-se que apenas o microrganismo *Escherichia coli* (3327419) apresentou-se sensível ao óleo essencial do alho com halo de 20mm confirmando os resultados obtidos pelo Ankri & Mirelmann (1999). Os outros microrganismos testados apresentaram-se resistentes ao óleo.

4. Conclusão

De acordo com os resultados obtidos verificou-se que o óleo essencial de alho teve apenas atividade antimicrobiana sobre o microrganismo *Escherichia coli* não apresentando atividade sobre os outros microrganismos testados.

5. Referências Bibliográficas

ANKRI, S.; MIRELMAN, D.; **Antimicrobial properties of allicin from garlic.** *Microbes and Infection* 1999, 125-129.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos.** 2000.

ARAÚJO, C. D. **Atividade antibacteriana in vitro e in situ de *Allium tuberosum* – Rottler ex Spengl (alho “nirá”, alho “japonês”, “jiucaí”, alho “chinês”) – Liliaceae – sobre agentes de toxinfecções alimentares.** 2007. Dissertação (mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

APOLINÁRIO, A. C. *et al.* ***Allium sativum* L. como agente terapêutico para diversas patologias: uma revisão.** 2008.

ARORA DS, KAUR J. **Antimicrobial activity of spices.** *Int. J. Antimicrob. Agents* 12: 257-262. (1999)

BAJPAI, V. K. *et al.* **Chemical composition and inhibitory parameters of essential oil and extracts of *Nandina domestica* Thunb. to control food-borne pathogenic and spoilage.** *International Journal of Food Microbiology*, v.125, p.117-122, 2008.

BAPTISTA, P; ANTUNES, C. **Higiene e segurança alimentar na restauração – Volume II – Avançado.** Forvisão – Consultoria em Formação Integrada, S.A., 2005.

BERWANGER *et al.* **Produção de biopolímero sintetizado por *Sphingomonas capsulata* a partir de meios industriais.** *Ciênc. Agrotec.* Vol. 31, n. 1, p1 177-183, jan/fev, 2007.

BONTEMPO, M. **Alho – Sabor e Saúde**. Alaude. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. EDC nº 12 de 03 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <HTTP:// www.anvisa.gov.br/legisl/resol/12_01rdchtm> Acesso em: 03 jun.2013.

BROOKS, G. F. *et al.* **Microbiologia Médica**. 22 ed. p. 136-137. Rio de Janeiro. McGraw-Hill Interamericana do Brasil Ltda, 2005.

BULBO de cor branca. Disponível em: <http://asetwerethekau.blogspot.com.br/2011_02_01_archive.html> Acesso em: Março, 2013.

BULBO de cor rosa. Disponível em: <<http://blog-do-caminho.blogspot.com.br/2012/05/os-poderes-do-alho.html>> Acesso em: Março, 2013.

BULBO de cor roxa. Disponível em: <<http://claudiokruger.blogspot.com.br/p/receitas.html>> Acesso em: Março, 2013.

BUSATTA, C. *et al.* **Application of *Origanum majorana* L. essential oil as an antimicrobial agent in sausage**. FoodMicrobiology, v. 25, n. 1, p. 207-211, 2008.

CARNEIRO, M; SARIDAKIS, H. O. **Pneumonia associada à ventilação mecânica por *Anicetobacter baumannii* resistente a carbapenem**. Rev. Panam. Infectol. 10(2): 28-33, 2008.

CELLINI, L.; DICAMPLI.; MASULLI, M.; DIBARTOLOMEO, S.; ALLOCATI, N.; **Inhibition of helicobacter pylori by garlic extract (*Allivium sativun*)**. Immunology and medical Microbiology. Chienti, n.13, p.273-277, 1996

DAMS, R. I. **Rizoremediação de pentaclorofenol em um solo argiloso por *Sphingomonas chlorophenolica* ATCC 39723.** Eng. Sanit. Ambient. p. 426-432. Vol. 12 – nº 4 - out/dez 2007.

FLOR do alho de cor branca. Disponível em: <<https://www.flickr.com/groups/13609085@N00/pool/page2/?view=lg>> Acesso em: Março, 2013.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos.** p. 1-5. São Paulo. Editora Atheneu, 2003.

ICMSF. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS. **Ecologia Microbiana de los Alimentos.** Zaragoza: Acribia, 1980. V.2; Produtos Alimentícios. P. 739-759.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia básica e clínica.** 8 ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2003.

KRUGER, M.F. **Controle de *Listeria monocytogenes* em linguiça frescal refrigerada através do uso de óleo essencial de orégano e nisina.** 2006. Dissertação (mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências farmacêuticas. Universidade Estadual de São Paulo, São Paulo.

LEUSCHNER, R.; ZAMPARINI, J.; **Effects of spices on growthne Survival of *Escherichia coli* 0157 and *Salmonella* enterica sorovar Enteridis in borth model Systems and mayonnaise.** Food Control, v.13, p.399-404, 2002

LEVINSON, W; JAWETZ, E. **Microbiologia Médica e Imunologia.** 7 ed. p.71. São Paulo. Artmed Editora S.A., 2007.

LUCATELLI, J. F; CANTARELLI, V. V; PICOLI, S. U. **Conjuntivite por *Achromobacter xylosoxidans*: relato de caso.** Vol. 72 nº2. São Paulo Mar./Apr. Arq. Bras. Oftalmol. 2009.

MARCHIORI, V. F. **Propriedades funcionais do alho (*Allium sativum* L.)** 2008.

MARTINS, R. G. A. **Avaliação do perfil de sensibilidade a antimicrobianos de *Stenotrophomonas maltophilia*, Complexo *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia gladioli* e *Achromobacter xylosoxidans* subsp. *xylosoxidans* obtidos de amostras respiratórias de pacientes portadores de Fibrose Cística.** Pesquisas Laboratoriais em Saúde Pública (PLSP). São Paulo, 2011.

MANTOVANI, R. P. **Citotoxina produzida por *Achromobacter xylosoxidans* isolados de pacientes com fibrose cística induz a produção de citocinas pró inflamatórias.** Faculdade de Ciências Médicas – Unicamp. Campinas, 2011.

OLIVEIRA, *et al.* **Avaliação do efeito antimicrobiano dos extratos de alho, gengibre e orégano em culturas de *Helicobacter pylori*.** Faculdade Assis Gurgacz, Cascavel, Paraná, 2007.

OLIVEIRA, A. C; DAMASCENO, Q. S. **Superfícies do ambiente hospitalar como possíveis reservatórios de bactérias resistentes: uma revisão.** Revista Escola Enfermagem USP, 2009.

OZCAN, M.; ERKMAN, O. **Antimicrobial activity of the essential oils of Turkinsh plant spices.** Eur. Food Res. Technol. 2012, 658-660, 2001

PEREIRA, A. S. *et al.* **Avaliação da acurácia de testes laboratoriais para detecção de amostras de *Klebsiella pneumoniae* produtora de betalactamase de espectro estendido.** Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, vol. 39, n. 4, p. 301-308, Rio de Janeiro, 2003.

PLANTA e bulbo. Disponível em:
<http://www.tudosobreplantas.com.br/plantas/Allium_sativum.htm> Acesso em: Março, 2013.

PONTES, V. M. O. **Perfil de Resistência de *Acinetobacter baumannii* a Antimicrobianos nas Unidades de Terapia Intensiva e Semi-Intensiva do Hospital Geral de Fortaleza.** RBAC, vol. 38(2): 123-126. Fortaleza, 2006.

RÖRIG, K. C. O. et al. **Produção de fatores de virulência *in vitro* por espécies patogênicas do gênero *Candida*.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 42(2): 225-227, mar-abr, 2009.

SÃO PAULO (Estado). **Decreto n.12486, de 20 de outubro de 1978. Aprova normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas.** Diário Oficial, São Paulo, p. 1-42, 21 out.1978

SHELF, L.A. **Antimicrobial effects of spices.** Journal of Food Safety. V.6, p.29-44, 1983

TASSOU, C. C. *et al.* **Inhibition of resident microbial flora and pathogen inocula on cold fresh fish filests in olive oil, oregano and lemon juice under modified atmosphere or air.** Journal of Food Protection, Iowa, v.59, n.1, p.31-34, 1995.

TRABULSI, L. R; ALTERTHUM, F. **Microbiologia.** 5ed. p. 175-182. São Paulo: Atheneu, 2008.