

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA DO EUGENOL FRENTE ÀS BACTÉRIAS *ESCHERICHIA COLI* ATCC 25922 E *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ATCC 29213 E HU25.Maria Eduarda Celeste Ramalho¹ (IC), Daniela Sachs (PQ)¹¹Universidade Federal de Itajubá.**Palavras-chave: Atividade bacteriostática. CMI. Molécula bioativa. Resistência bacteriana.****Introdução**

Infecções associadas a biofilmes bacterianos têm aumentado significativamente, configurando um desafio persistente para a saúde pública e um cenário clínico de difícil manejo. Com o surgimento de cepas resistentes a antimicrobianos, a morbidade e mortalidade tornam-se expressivas, visto que aproximadamente 65% das infecções humanas e 80% das infecções crônicas estão relacionadas à formação de biofilmes (Zou *et al.*, 2023). O quadro supra citado representa uma preocupação mundial, destacada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), que em 2019 incluiu a resistência bacteriana aos antimicrobianos é uma das dez maiores ameaças à saúde global (EClinicalMedicine, 2021).

Grande parte das bactérias resistentes é também responsável por infecções nosocomiais, que necessitam tratamentos complexos e, muitas vezes, ineficazes, podendo evoluir para óbito. No Brasil, estima-se que cerca de 45 mil mortes em 2023 tenham sido causadas por esse tipo de infecção (ANS, 2023). O avanço da resistência a quase todas as classes de antibióticos reforça a necessidade de desenvolver novos fármacos e estratégias terapêuticas (EClinicalMedicine, 2021).

O potencial antimicrobiano dos óleos essenciais é amplamente reconhecido, havendo dados consistentes sobre os compostos ativos e seus mecanismos de ação (Soulaimani, 2025). Esses metabólitos de origem botânica, extraídos de plantas aromáticas, atuam principalmente na desestabilização da membrana celular bacteriana e na inibição de bombas de efluxo associadas à resistência em Gram-negativas. Outro mecanismo descrito é a inibição da síntese do peptidoglicano da parede celular por meio da ligação às PBPs em Gram-positivas (Iseppi *et al.*, 2021).

Dentre esses compostos, destaca-se o Eugenol, um fenilpropanóide presente no cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) (Lady *et al.*, 2023). Esse metabólito apresenta diversas propriedades farmacológicas, incluindo atividades antioxidante, anti-inflamatória, neuroprotetora, hipolipidêmica,

antidiabética, anticancerígena e antimicrobiana (Eleleemy *et al.*, 2020). Sua ação antimicrobiana é relevante contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, com destaque para *Staphylococcus aureus* (Lady *et al.*, 2023). O Eugenol promove a degradação da parede celular, desestabiliza proteínas e lipídios de membrana, aumenta a permeabilidade e expõe o conteúdo citoplasmático, culminando na coagulação celular (Eleleemy *et al.*, 2020).

Assim, esta pesquisa tem como objetivo determinar a Concentração Mínima Inibitória (CMI) do Eugenol frente a cepas bacterianas de importância clínica: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 e *Staphylococcus aureus* resistente à metilina MRSA, isoladas na clínica do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF), no Rio de Janeiro - *S. aureus* HU25. A avaliação do potencial bacteriostático do Eugenol mostra-se relevante diante da necessidade de novos agentes com esse perfil, representando uma estratégia terapêutica promissora, especialmente no contexto do crescente cenário de resistência bacteriana a fármacos de ação bactericida direta (Ishak *et al.*, 2024).

Metodologia

Para determinar a CMI, as cepas bacterianas *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 e HU25 foram semeadas em placas de Tryptic Soy Agar (TSA) e mantidas em incubação a 37 °C por 24 horas. Após o crescimento, colônias isoladas foram transferidas para tubos contendo 5 mL de solução salina estéril a 0,9%, ajustando-se a turbidez à escala 0,5 de McFarland. Esse procedimento permitiu a padronização da suspensão bacteriana, equivalente a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL.

Para o ensaio de microdiluição, utilizou-se uma placa estéril de 96 poços. Em cada poço das colunas 1, 2, 3, 5, 6 e 7 foram dispensados 90 µL de caldo BHI. Em seguida, soluções de Eugenol, variando de 40 mg/mL a 12 mg/mL (identificadas nos tubos A a H), foram

“Do conhecimento acadêmico à transformação sustentável: inovação com validação científica”

preparadas. A partir dessas soluções, 10 µL foram adicionados aos poços 1A-H, 2A-H e 3A-H, resultando nas seguintes concentrações finais: A – 2000 µg/mL; B – 1800 µg/mL; C – 1600 µg/mL; D – 1400 µg/mL; E – 1200 µg/mL; F – 900 µg/mL; G – 700 µg/mL; H – 600 µg/mL.

Como controle negativo, todos os poços da coluna 9 receberam 200 µL de BHI, a fim de verificar a esterilidade do meio. Na coluna 11, os poços A–D receberam 100 µL de BHI, enquanto os poços E–H receberam 90 µL de BHI acrescidos de 10 µL de dimetilsulfóxido (DMSO). Já na coluna 12, o poço A recebeu 180 µL de BHI, ao qual foram adicionados 20 µL de um fármaco de referência utilizado como controle positivo (vancomicina para a bactéria Gram-positiva e ciprofloxacina para a Gram-negativa).

Por fim, em todos os poços das colunas 1, 2, 3, 5, 6, 7, 11 e 12 foram adicionados 100 µL do inóculo bacteriano padronizado. A Figura 1 apresenta a disposição experimental da placa.

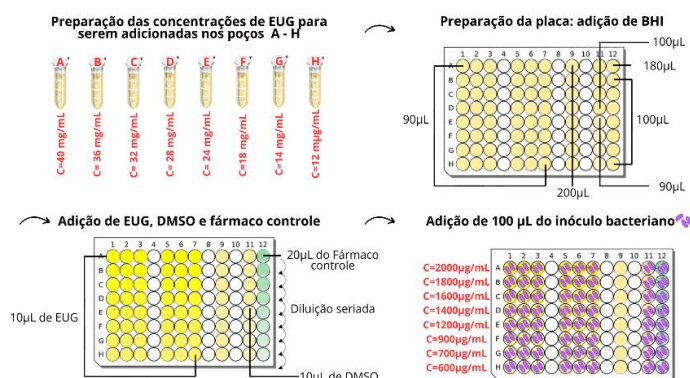


Figura 1- Preparação de placas de 96 poços

Fonte: Autora

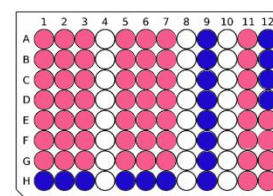
A placa foi incubada a 37 °C por 24 horas. Em seguida, adicionaram-se 10 µL de resazurina em cada poço, seguida de nova incubação por 1 hora. A aplicação do corante possibilitou a leitura visual: a mudança para a coloração rosa indicou crescimento bacteriano, enquanto a coloração azul correspondeu à ausência de crescimento. A Concentração Mínima Inibitória (CMI) foi definida como a menor concentração do composto capaz de impedir o crescimento visível da cultura bacteriana.

Resultados e discussão

Os ensaios de CMI realizados com o Eugenol demonstraram valor de 600 µg/mL frente à cepa *Escherichia coli* ATCC 25922. Para as bactérias gram-positivas, o *S. aureus* HU25 apresentou CMI de 600 µg/mL, enquanto o *S. aureus* ATCC 29213 apresentou

um valor mais elevado, de 1200 µg/mL. As Figuras abaixo ilustram esquematicamente esses resultados.

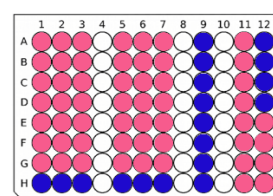
Figura 2 – Placa de CMI para *E. coli* ATCC 25922



MIC = 600 µg/mL

Fonte: Autora.

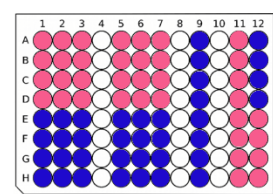
Figura 3- Placa de CMI para *S. aureus* HU25



MIC = 600 µg/mL

Fonte: Autora.

Figura 4- Placa de CMI *S. aureus* ATCC 29213



MIC = 1200 µg/mL

Fonte: Autora.

No caso da cepa *E. coli* ATCC 25922, o valor de CMI obtido está de acordo com os dados da literatura, demonstrando valores próximos ou mais elevados. Fink *et al.* (2023), por exemplo, relataram CMI de 0,1 mg/mL para essa mesma bactéria.

Para as cepas gram-positivas, os valores de CMI foram superiores do que o descrito por outros trabalhos. Al-Shabib *et al.* (2017) analisaram diversas cepas MRSA e observaram valores de CMI variando entre 42 e 665 µg/mL.

Para a cepa *S. aureus* HU25, resistente à metilina pode-se observar, os menores valores CMI do Eugenol em comparação a cepa referência. Lopes *et al.* (2021) observou comportamento semelhante do Farnesol, outro constituinte de óleo essencial. Esse resultado revela que os componentes de óleos essenciais são promissores no tratamento de bactérias com genes de resistência.

“Do conhecimento acadêmico à transformação sustentável: inovação com validação científica”

As diferenças encontradas entre este trabalho e os dados disponíveis na literatura podem estar relacionadas a diferenças metodológicas, como a pureza do Eugenol, o meio de cultura utilizado, a cepa investigada, a carga bacteriana inoculada (Alves *et al.*, 2008), bem como adaptações da metodologia. Além disso, estudos apontam que a atividade do Eugenol pode variar significativamente entre cepas distintas (Ribeiro *et al.*, 2024).

Conclusões

Os resultados obtidos nos experimentos microbiológicos evidenciam que o Eugenol apresenta atividade bacteriostática tanto contra cepas gram-positivas quanto contra cepas gram-negativas.

Agradecimentos

Agradecimentos à Universidade Federal de Itajubá pela disponibilidade e oportunidade da realização da pesquisa científica além da concessão da bolsa e a Fundação ao Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG -APQ-01956-23).

Referências

AL-SHABIB, N. A. *et al.* Eugenol inhibits quorum sensing and biofilm of toxigenic MRSA strains isolated from food handlers employed in Saudi Arabia. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 31, n. 2, p. 387-396, 2017.

ALVES, E. G. *et al.* Estudo comparativo de técnicas de screening para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. **Química nova**, v. 31, p. 1224-1229, 2008.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE SAÚDE SUPLEMENTAR. ANS alerta sobre o controle das infecções hospitalares. Brasília, DF: ANS, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/ans/pt-br/assuntos/noticias/qualidade-da-saude/ans-alerta-sobre-o-controle-das-infecoes-hospitalares>. Acesso em: 14 ago. 2025.

ECLINICALMEDICINE. *Antimicrobial resistance: a top ten global public health threat*. **EClinicalMedicine**, v. 41, n. 101221, 2021.

ELELEEMY, *et al.* A succinct review on the therapeutic potential and delivery systems of Eugenol. **Archives of Pharmaceutical Sciences Ain Shams University**, v. 4, n. 2, p. 289-310, 2020.

FINK, Rok. Terpenoids as Natural Agents against Food Borne Bacteria-Evaluation of Biofilm Biomass versus Viability Reduction. **Process**, v. 11, n. 148, 2023.

ISEPPI, Ramona, *et al.* Essential Oils: A Natural Weapon against Antibiotic-Resistant Bacteria Responsible for Nosocomial Infections. **Antibiotics**, v.10, n. 417, 2021.

ISHAK, A. *et al.* Bactericidal versus bacteriostatic antibacterials: clinical significance, differences and synergistic potential in clinical practice. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 80, n. 1, p. 1-17, 2024.

LADY, Julietta, *et al.* Synergistic Effect and Time-Kill Evaluation of Eugenol Combined with Cefotaxime Against *Staphylococcus aureus*. **Current Microbiology**, v. 80, n.244, 2023.

LOPES, A. P. *et al.* Antimicrobial, Modulatory, and Antibiofilm Activity of tt-Farnesol on Bacterial and Fungal Strains of Importance to Human Health. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 47, p. 128192, 2021.

SOULAIMANI, Bouchra. Comprehensive Review of the Combined Antimicrobial Activity of Essential Oil Mixtures and Synergism with Conventional Antimicrobials. **Natural Product Communications**, v. 20, n. 3, p. 1-22, 2025.

ZIAO, Yinping, *et al.* Impact of quorum sensing signaling molecules in gram-negative bacteria on host cells: current understanding and futures perspectives. **Gut Microbes**, v. 14, n. 1, 2022.

ZOU Lingyun, *et al.* Raspberry-like gold nanozyme-hybrid liposomes for hypoxia-enhanced biofilm eradication. **NanoToday**, v. 50, n. 101828, 2023.