

CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Rosmarinus officinalis*

Mylena Teixeira de Lima¹, Tchasla Lorenzetti Sedrez¹, Maria Eduarda de Leão¹,
Fabiola Bogoni Mundstock¹, Acir Felipe Grolli Carvalho¹

¹Centro Universitário Avantis - Uniavan – SC, Brasil
e-mail: fabiola.bogoni@uniavan.edu.br

INTRODUÇÃO

A resistência bacteriana aos antibióticos representa atualmente, um dos maiores desafios à saúde pública, devido ao fato das bactérias desenvolverem mecanismos que neutralizam os efeitos dos medicamentos, tornando infecções comuns, como pneumonia e infecções urinárias, em quadros mais graves e de difícil tratamento. Este fato acarreta prolongamento de hospitalizações, elevando taxas de mortalidade e aumentando o risco de complicações em procedimentos médicos rotineiros, como cirurgias e quimioterapias (Naghavi et al., 2024).

No cenário global, de acordo com uma análise sistemática publicada em 2024, no ano de 2021 foram registradas 1,14 milhão de mortes diretamente atribuíveis à resistência antimicrobiana bacteriana, chegando a 4,71 milhões de óbitos associados. Mesmo tendo sido observado redução em relação aos 1,27 milhão de mortes diretas em 2019, devido aos impactos da pandemia de COVID-19, na carga de doenças bacterianas; projeções indicam aumento destes índices, podendo chegar aos 39 milhões de óbitos cumulativos diretos e 169,6 milhões associados, previstas até 2050, sob o cenário de referência. Essa tendência reflete o uso excessivo e inadequado de antibióticos em humanos, animais e mesmo no cenário agrícola, exacerbando a disseminação de patógenos resistentes como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* meticilina-resistente (MRSA). Desta maneira, pode-se observar a necessidade do aumento na demanda de investimentos urgentes em vigilância epidemiológica e desenvolvimento de novos fármacos (Barbosa et al., 2025).

No Brasil, a resistência microbiana demonstra-se ainda mais preocupante, apresentando estimativas de 31.700 mortes atribuíveis e 130.000 associadas à resistência bacteriana em 2021, o que se refere a taxa de 63 óbitos a cada 100.000 habitantes, o que se

demonstra superior à média latino-americana e impulsionada por conta do alto consumo de antibióticos. Este consumo elevado fica evidenciado por aumento de 66,8% nas vendas de antimicrobianos entre 2014 e 2021, especialmente nas regiões Nordeste e Centro-Oeste do país. Essa realidade impacta severamente os tratamentos de doenças infecciosas, sobrecarregando o Sistema Único de Saúde (SUS) com custos elevados em internações prolongadas e terapias de segunda linha (Keenan et al., 2025)

Neste contexto, existe a necessidade de busca novas alternativas para os tratamentos de enfermidade causadas por microrganismos resistentes, sendo assim, a utilização de produtos naturais tem ganhado destaque na pesquisa científica, especialmente devido à capacidade desses compostos de atuar em múltiplos alvos bacterianos, reduzindo o desenvolvimento de resistência. Componentes advindos do metabolismo especializado das plantas, como alcaloides, flavonoides, fenóis, saponinas, taninos e terpenoides, têm demonstrado importante potencial antimicrobiano, tornando-se opção na busca de novas substâncias que possam agir de maneira eficiente, frente aos microrganismos resistentes (Guedes et al., 2024).

Uma das plantas com potencial antimicrobiano que pode ser citada é *Rosmarinus officinalis* L., popularmente conhecido como Alecrim. Originária da região mediterrânea, é um arbusto aromático perene da família Lamiaceae, caracterizado por folhas lineares verde-escuras, flores azuladas ou brancas e um crescimento que pode atingir até dois metros de altura em climas quentes e secos, sendo amplamente cultivado para fins ornamentais, culinários, cosméticos e medicinais devido ao seu aroma intenso e propriedades terapêuticas. considerada uma planta com variadas propriedades farmacológicas, aromáticas e nutricionais. Possui diversas capacidades bioativas, como antibacteriana, antioxidante, anticancerígena e neuroprotetora (Chaul et al., 2022).

A composição fitoquímica do alecrim inclui diversos compostos fenólicos, como ácido rosmarínico e ácido carnósico, flavonoides como luteolina e apigenina, terpenoides, taninos e óleos essenciais, compostos por α -pineno, canfeno, limoneno e cineol. Estes compostos são comumente encontrados nas folhas da planta e são extraídos por meios aquosos ou alcoólicos, apresentando extratos com teores totais de fenóis variando de 7,70 mg mL⁻¹ a 49,34 mg mL⁻¹ e flavonoides de 5,12 mg mL⁻¹ a 24 mg mL⁻¹. A presença destes compostos nos produtos derivados do alecrim têm demonstrado atividade bactericida e fungicida contra patógenos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* (Mousawi, 2024).

Sendo assim, com base no exposto, é notória a necessidade de pesquisas científicas que almejem desenvolver alternativas para o uso dos antibióticos presentes no mercado atual, bem como, a importância de fomentar o uso de produtos naturais que possam servir de base para o desenvolvimento de novos medicamentos que sejam eficientes para o controle das infecções resistentes. Desta forma, o presente ensaio tem por objetivo determinar a atividade antimicrobiana do extrato etanólico das folhas frescas da planta *Rosmarinus officinalis*, frente os microrganismos resistentes *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

PROBLEMATIZAÇÃO E JUSTIFICATIVA

Os microrganismos patogênicos vêm demonstrando, gradualmente, aumento no seu potencial de resistência frente aos princípios ativos antimicrobianos, o que gera preocupação em relação ao sucesso dos tratamentos de doenças infecciosas. Este fato vem sendo observado tanto no cenário da medicina humana, como na medicina veterinária, haja vista que, a grande maioria dos patógenos e dos medicamentos são comuns entre ambas as esferas.

Desta forma, relaciona-se a problemática envolvendo uma questão de saúde pública e aumento de gastos, por conta da duração prolongada dos tratamentos, bem como os atendimentos de recidiva dos indivíduos acometidos por doenças infecciosas causadas por microrganismos resistentes.

METODOLOGIA

Para obtenção do extrato vegetal foram utilizadas 150 g de folhas frescas de *Rosmarinus officinalis* obtidas no comércio local, em ervanária. O extrato foi obtido utilizando-se como líquido extrator o etanol 96°GL, sob extração contínua, utilizando o equipamento de soxhlet, tendo sido realizados quatro ciclos de extração, encerrando o processo quando foi atingida exaustão da planta.

A extração do solvente foi realizada por meio de evaporação em chapa de aquecimento, sob temperatura de 50 °C, a fim de preservar os componentes fitoquímicos do extrato.

A atividade antimicrobiana do extrato etanólico de alecrim foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, determinando a concentração inibitória mínima (CIM)

para cada microrganismo testado, conforme o protocolo padronizado pela Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI, 2002). As culturas bactérias de estoque dos microrganismos *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* foram repicadas em padrão. Estas permaneceram em estufa micológica a 37 °C por 24 horas. A partir das colônias frescas repicadas, foi realizada uma suspensão equivalente a turvação da escala 0,5 McFarland.

O extrato de alecrim foi preparado na concentração de 4.000 µg mL⁻¹, utilizando-se Tween 80 a 2% como agente solubilizante.

Em uma microplaca estéril de 96 poços, foram adicionados 200 µL de caldo Muller Hinton em cada poço. Nos primeiros poços foi adicionado 200 µL do extrato na concentração inicial, sendo realizado a partir daí a diluição seriada da amostra até a concentração de 0,6 µg mL⁻¹. Posteriormente foi adicionado então em cada poço, 10 µL do inóculo bacteriano. Foram incubadas as microplacas a 37 °C por 24 horas. Como controle positivo foi utilizado o antimicrobiano gentamicina na concentração mínima inibitória indicada pela literatura, de 4 µg mL⁻¹ (CLSI, 2002). A avaliação da inibição do crescimento bacteriano foi observada pela utilização do revelador 2,3,5- cloreto de trifetil tetrazólio, que foi adicionado na quantidade de 10 µL em cada poço da placa, sendo esta conduzida para estufa a 37 °C por dez minutos, a coloração rosa, indicou inibição do crescimento microbiano.

RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO

A Tabela 1 demonstra os valores obtidos a partir do teste de avaliação da concentração inibitória mínima do extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis*, frente as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Pode-se observar que houve atividade antimicrobiana do extrato frente ambos microrganismos, tendo sido encontrado concentrações inibitórias mínimas (CIM) de 31,25 µg mL⁻¹ e 16,12 µg mL⁻¹, respectivamente. Esses valores indicam a capacidade do extrato em inibir o crescimento bacteriano em concentrações relativamente baixas, o que sugere uma potência notável para um produto natural.

Tabela 1. Concentração inibitória mínima (CIM) do extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis*.

UNIAVAN. Balneário Camboriú – SC, 2025.

Microrganismo	CIM (µg mL ⁻¹)
---------------	----------------------------

Escherichia coli	31,25
Staphylococcus aureus	16,12

Especificamente, a CIM mais baixa foi observada para *S. aureus*, o que aponta para uma sensibilidade maior dessa bactéria. Justifica-se este achado ao fato de a bactéria ser Gram-positiva, sendo assim, sua parede celular apresenta maior sensibilidade, quando em comparação à *E. coli*, uma bactéria Gram-negativa. Acredita-se que este achado foi observado devido a presença de componentes como ácido rosmarínico e carnosínico no extrato testado, pois estes compostos interferem diretamente na permeabilidade da membrana plasmática e da parede celular (Chaul et al., 2022).

Pode-se classificar a atividade antimicrobiana do extrato como de nível alto, pois, de acordo com os critérios estabelecidos para os extratos vegetais, valores de CIM abaixo de $400 \mu\text{g mL}^{-1}$ é associada a efeitos antimicrobianos robustos. Em comparação com estudo realizado por Fazeli-Nasab et al. (2021), os valores obtidos neste ensaio corroboram com os achados dos autores, que encontraram CIM variando de 12,5 a $62,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ para extrato etanólico de alecrim, quando testado frente *E. coli* e *S. aureus*.

Em estudo recente realizado por Abd-Elhalim et al. (2025), em que foi testada a atividade antimicrobiana do extrato aquoso de alecrim, as CIM encontradas foram de $875 \mu\text{g mL}^{-1}$ para *S. aureus* e 1.125 mg mL^{-1} para *E. coli*. Sendo assim, pode-se afirmar que formulações etanólicas tendem a oferecer atividade mais intensa, conforme apresentado no presente estudo.

Em relação a comparação entre a atividade antimicrobiana do extrato etanólico de alecrim e do medicamento utilizado como controle positivo, a gentamicina, pode-se observar que o extrato demonstrou atividade inferior, pois a CIM dos extratos apresentou-se superior à do antimicrobiano, que é de $4 \mu\text{g mL}^{-1}$. Ressalta-se, porém, que para extratos vegetais, esses CIM elevados ainda demonstram o alecrim como alternativa viável em contextos de resistência antimicrobiana crescente, pois existe a possibilidade do extrato ser utilizado com potencial sinérgico em formulações combinadas, evitando toxicidade associada a doses altas de fármacos.

CONCLUSÕES

Conforme os achados neste estudo, pode-se observar que o extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis*, popularmente conhecido como alecrim, demonstrou-se eficiente em relação a inibição do crescimento dos microrganismos *E. coli* e *S. aureus*, pois observou-se valor de CIM abaixo dos valores comumente encontrados para extratos vegetais.

No entanto, cabe ressaltar, que mais estudos são necessários, a fim de determinar o mecanismo de ação do extrato frente aos microrganismos, bem como, as possíveis formas de utilização dos produtos naturais como tratamento em casos de infecções causadas por microrganismos resistentes.

REFERÊNCIAS

- ABD-ELHALIM, Basma T. *et al.* Biological activities and application of *Rosmarinus officinalis* extract to improve the preservation and microbial qualities of some local meat products. **Scientific Reports**, v. 15, n. 1, p. 30806, 2025. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-025-14247-x> . Acesso em: 20 de set de 2025.
- BARBOSA, Jakeline Ribeiro *et al.* Antimicrobial sales profile in Brazil from 2014 to 2021: analysis of records from the National System of Controlled Products Management. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 28, p. e250040, 2025. Disponível em: <https://www.scielo.org/article/rbepid/2025.v28/e250040/en/>. Acesso em: 20 de set de 2025.
- CHAUL, Luiza Toubas *et al.* Antimicrobial activity and physicochemical characterization of extracts and fractions of *Rosmarinus officinalis* and *Origanum vulgare*. **Fronteira: Journal of Social, Technological and Environmental Science**, v. 11, n. 1, p. 8-30, 2022. Disponível em: <https://revistas2.unievangelica.edu.br/index.php/fronteiras/article/view/4029> . Acesso em 3 de abril de 2025.
- CLSI - CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**: approved standard. 6. ed. Wayne, PA: CLSI, 2002. (M07-A6). Disponível em: <https://clsi.org/shop/standards/m07/> . Acesso em: 10 de nov de 2024.
- FAZELI-NASAB, Bahman *et al.* Evaluation of the antimicrobial activity of olive and rosemary leaf extracts prepared with different solvents against antibiotic-resistant *Escherichia coli*. **Int J Infect**, v. 8, n. 3, p. e114498, 2021. Disponível em: <https://www.academia.edu/download/78883146/f26684e4-fbb8-11eb-a83c-17c3844cc454.pdf> . Acesso em: 12 de mai de 2025.
- GUEDES, Beatriz N. *et al.* Natural antibiotics against antimicrobial resistance: sources and bioinspired delivery systems. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 55, n. 3, p. 2753-2766, 2024. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42770-024-01410-1>. Acesso em: 12 de mai de 2025.
- KEENAN, Katherine *et al.* Antimicrobial resistance burden estimates from the bottom-up: research priorities for estimating the impact of antimicrobial resistance in Brazil. **IJID regions**, v. 14, p. 100558, 2025. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772707624002273> . Acesso em: 12 de mai de 2025.

MOUSAWI, Heyam. G. A. Phytochemical Components and Antimicrobial Efficacy of Rosemary Plant (*Rosmarinus Officinalis*) Extract. **American Journal of Biology and Natural Sciences**, v.1, n.9, p.113–121, 2024. Disponível em:

<https://biojournals.us/index.php/AJBNS/article/view/321>. Acesso em: 10 de set de 2025.

NAGHAVI, Mohsen *et al.* Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. **The Lancet**, v. 404, n. 10459, p. 1199-1226, 2024. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(24\)01867-1/fulltext?hidemenu=true](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(24)01867-1/fulltext?hidemenu=true) . Acesso em: 8 de abri de 2025.