

O potencial antimicrobiano do carveol: uma revisão integrativa

Gustavo Fernandes Queiroga Moraes¹, Girlene Macena Santos², Franciele Maiara de Araújo Castro³, Igara Oliveira Lima^{4*}

Unidade Acadêmica de Saúde, Centro de Educação e Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, 58175-000, Cuité, Paraíba, Brasil.

Correios eletrônicos:

¹gustavoo.queiroga@gmail.com

²gyrlenemacena@gmail.com

³francielecastroufcm@gmail.com

^{4*}Autora correspondente: igara.oliveira@professor.ufcg.edu.br

Recebido: 3 de março de 2021

Revisado: 1 de maio de 2021

Aceto: 7 de maio de 2021

RESUMO

Objetivo: realizar uma revisão bibliográfica sobre o potencial antimicrobiano do carveol. É uma revisão integrativa entre os anos de 2010-2020 nas bases de dados BVS, PubMed, SciELO, ScienceDirect e Web of Science. **Metodologia:** dos 2753 artigos recuperados nas bases de dados, apenas 5 foram selecionados para compor os resultados, sendo os gêneros mais estudados *Candida*, *Staphylococcus* e *Escherichia*. A técnica de microdiluição em caldo foi a metodologia mais utilizada para determinar sua ação. Em termos de MIC, para a maioria das espécies, foram excelentes. Em relação ao teste Time-kill, o carveol teve um excelente desempenho na concentração de 4 x MIC, que mostrou uma redução de UFC de 6 log em 2 horas. Não foram encontrados na literatura estudos sobre a utilização do método Checkboard. Além disso, este composto apresentou boa atividade antibiofilme contra bactérias *Staphylococcus aureus*. **Resultados:** o possível mecanismo de ação da atividade antimicrobiana do carveol ocorre por meio dos graves danos causados às membranas citoplasmáticas, o que favorecerá a lise celular. Dessa forma, existem poucos estudos na coleção científica disponível que abordem o assunto, sendo necessária a realização de mais estudos *in vitro* e *in vivo* para melhor elucidar sua ação.

Palavra chave: Monoterpenos, carveol, atividade antibacteriana, atividade antifúngica.

SUMMARY

The antimicrobial potential of carveol: an integrative review

Aim: to carry out a bibliographic review on the antimicrobial potential of carveol. It is an integrative review between the years 2010-2020 in the BVS, PubMed, SciELO, ScienceDirect and Web of Science databases. **Methodology:** of the 2753 articles retrieved from the databases, only 5 were selected to compose the results, the most studied genera being *Candida*, *Staphylococcus* and *Escherichia*. The broth microdilution technique was the most widely used methodology to determine its action. In terms of MIC, for most species, they were excellent. Regarding the Time-kill test, carveol had an excellent performance at a concentration of 4 x MIC, which showed a reduction of CFU by 6 log in 2 hours. No studies have been found in the literature on the use of the Checkboard method. Furthermore, this compound had good antibiofilm activity against *Staphylococcus aureus* bacteria. **Results:** the possible mechanism of action of the antimicrobial activity of carveol occurs through the severe damage caused to the cytoplasmic membranes, which will favor cell lysis. Thus, there are few studies in the available scientific collection that address the subject, so it is necessary to carry out more in vitro and in vivo studies to better elucidate its action.

Key-words: Monoterpenes, carveol, antibacterial activity, antifungal activity.

RESUMEN

El potencial antimicrobiano del carveol: una revisión integradora

Objetivo: realizar una revisión bibliográfica sobre el potencial antimicrobiano del carveol. Se trata de una revisión integradora entre los años 2010-2020 en las bases de datos de BVS, PubMed, SciELO, ScienceDirect y Web of Science. **Metodología:** de los 2753 artículos recuperados de las bases de datos, solo se seleccionaron 5 para componer los resultados, siendo los géneros más estudiados *Candida*, *Staphylococcus* y *Escherichia*. La técnica de microdilución en caldo fue la metodología más utilizada para determinar su acción. En cuanto a CIM, para la mayoría de las especies, fueron excelentes. En cuanto al ensayo Time-kill, el carveol tuvo un excelente desempeño a una concentración de 4 x MIC, que mostró una reducción de UFC en 6 log en 2 horas. No se ha encontrado ningún estudio en la literatura sobre el uso del método Checkboard. Además, este compuesto tenía una buena actividad antibiofilm contra la bacteria *Staphylococcus aureus*. **Resultados:** el posible mecanismo de acción de la actividad antimicrobiana del carveol se produce a través del severo daño causado

en las membranas citoplasmáticas, lo que favorecerá la lisis celular. Así, son pocos los estudios en la colección científica disponible que abordan el tema, por lo que es necesario realizar más estudios *in vitro* e *in vivo* para dilucidar mejor su acción.

Palabras clave: Monoterpenicos, carveol, actividad antibacterial, actividad antifúngica.

INTRODUÇÃO

Ao longo do tempo, as plantas medicinais foram utilizadas, de modo alternativo, para o tratamento de distintas afecções. Assim, devido aos seus respectivos históricos clínicos e subsequentes estudos etnofarmacológicos, representam uma importante fonte de descoberta a novos fármacos atualmente [1-3].

Os óleos essenciais compreendem ao conjunto de metabólitos secundários, caracterizados por apresentar odores intensos, serem lipofílicos, voláteis e possuírem um promissor potencial farmacológico, os quais são extraídos de diversas partes da planta, mediante a técnica de arraste a vapor. A constituição química destas substâncias aromáticas diversifica-se de acordo com as espécies vegetais, entretanto, os fenilpropanóides e terpenos são os mais encontrados [4-7].

Nesse sentido, os terpenos correspondem a uma classe de compostos naturais formadas através da agregação de moléculas de isopreno (C_5H_8), em que são classificadas em subgrupos, sendo estes os monoterpenos (C_{10}), sequiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), terpenos ésteres (C_{25}), triterpenos (C_{30}) e terpenos superiores ($>C_{30}$), segundo o quantitativo de unidades de isoprenos. Os monoterpenos, por sua vez, são frequentemente encontrados nos óleos essenciais, compondo 90% de sua composição. Evidenciam-se nestes fitoconstituintes uma grande variedade estrutural, dessa forma, podendo ter cadeias carbônicas alifáticas, monocíclicas [8-13].

Carveol ($C_{10}H_{16}O$) é um monoterpeno monocíclico, o qual contém em sua fórmula molecular um álcool secundário [14]. Além disso, faz parte da constituição de diversos óleos voláteis, no entanto, como produto majoritário, destacam-se *Etlíngera sayapensis* (13, 49%) [15] e *Mentha spicata* L. (24, 3%) [16].

Estudos presentes no acervo científico disponível comprovam a eficácia deste fitoconstituinte como antioxidante [17], vasorelaxante [18], antinicotínico [19], antimicrobiano [20], anti-inflamatório [21], nematicida [22], anticâncer [23] e antinociceptivo [24].

Na literatura, a atividade antimicrobiana deste monoterpeno, já é discutida, entretanto, pouco se tem sobre o assunto. À vista disso, o presente estudo tem como finalidade realizar uma revisão integrativa acerca do potencial antimicrobiano do carveol.

METODOLOGIA

Delineamento do estudo

Trata-se de uma revisão do tipo integrativa, com o propósito de possibilitar a reunião de diversos estudos, os quais incluem a uma minuciosa investigação de importantes pesquisas que contribuem para tomada de decisões e aperfeiçoamento da prática clínica [25].

Para o direcionamento do estudo foi formulado a seguinte pergunta: O carveol apresenta uma atividade antimicrobiana promissora?

Critérios de elegibilidade

Foram incluídos artigos publicados entre os anos de 2010 a 2020, sobre a atividade antimicrobiana do carveol e que tivessem sido publicados nas línguas inglesa, portuguesa e/ou espanhola. Pesquisas realizadas em tempo cronológico desconforme do delimitado, pela qual não apresentava a atividade antimicrobiana do carveol de modo isolado, evidenciava outras atividades farmacológicas, eram revisões da literatura, livros, capítulos de livros, ou que ainda, abordassem acerca de assuntos não pertinentes ao proposto, foram excluídos.

Fontes de informação

Os artigos foram recuperados a partir das bases de dados: BVS (Biblioteca Virtual em Saúde), *PubMed*, *SciELO (Scientific Electronic Library Online)*, *ScienceDirect* e *Web of Science*. O levantamento dos dados ocorreu entre março de 2020 a dezembro de 2020.

Estratégia de busca

A estratégia de busca aplicada para pesquisa nas bases de dados se deu pela utilização dos seguintes descritores e palavras-chave: “(*antimicrobial activity*) AND (carveol)”, “(atividade antimicrobiana) AND (carveol)”, “(*antifungal activity*) AND (carveol)”, “(atividade antifúngica) AND (carveol)”, “(*antibacterial activity*) AND (carveol)”, “(atividade antibacteriana) AND (carveol)”, “((*antimicrobial activity*) AND (carveol)) AND *association*”, “((atividade antimicrobiana) AND (carveol)) AND associação”, “((*antifungal activity*) AND (carveol)) AND *association*”, “((atividade antifúngica) AND (carveol)) AND associação”, “((*antibacterial activity*) AND (carveol)) AND *association*”, “((atividade antibacteriana) AND (carveol)) AND associação”, “((*antimicrobial activity*) AND (carveol)) AND *Checkborad method*”, “((atividade antimicrobiana) AND (carveol)) AND método de *Checkboard*”, “((*antifungal activity*) AND (carveol)) AND *Checkborad method*”, “((atividade antifúngica) AND (carveol)) AND método de *Checkboard*”, “((*antibacterial activity*) AND (carveol)) AND *Checkborad method*”, “((atividade antibacteriana) AND (carveol)) AND método de *Checkboard*”, “((*time kill kinetic assay*)

AND (carveol)) AND antimicrobial activity”, “((time kill kinetic assay) AND (carveol)) AND antifungal activity”, “((time kill kinetic assay) AND carveol) AND antibacterial activity”, “(antibiofilm) and (carveol)”, “(antibiofilme) AND (carveol)”, “(antibiofilm activity) AND (carveol)”, “(atividade antibiofilme) AND (carveol)”, “(fungi) AND (carveol)”, “(fungo) AND (carveol)”, “(bacteria) AND (carveol)”, “(bactéria) AND (carveol)”, carveol* “E” antimicrobial* activity*, carveol* “E” antifungal* activity*, carveol* “E” antibacterial* activity*, carveol* “E” bacteria*, carveol* “E” fungi*, antimicrobial* activity* “E” carveol* “E” association*, antifungal* activity* “E” carveol* “E” association*, antibacterial* activity* “E” carveol* “E” association*, antimicrobial* activity* “E” carveol* “E” Checkboard method*, antifungal* activity* “E” carveol* “E” Checkboard method*, antibacterial* activity* “E” carveol* “E” Checkboard method*, antibacterial* activity* “E” carveol* “E” time kill kinetic assay*, antimicrobial* activity* “E” carveol* “E” time kill kinetic assay*, antifungal* activity* “E” carveol* “E” time kill kinetic assay*, antibiofilm activity* “E” carveol* e antibiofilm* “E” carveol*. Deste modo, para realização do método proposto, os artigos foram recuperados por um pesquisador de forma independente.

Estudos selecionados e avaliação dos procedimentos

A princípio, os títulos e resumos dos artigos encontrados, foram examinados com o intuito de averiguar os critérios de elegibilidade estabelecidos. Em seguida, ocorreu a leitura completa dos estudos selecionados na primeira etapa, os quais aqueles não qualificados, devido não atenderem o propósito do estudo, foram excluídos. Evidencia-se na figura 1, um fluxograma representando os estágios do desenvolvimento do estudo.

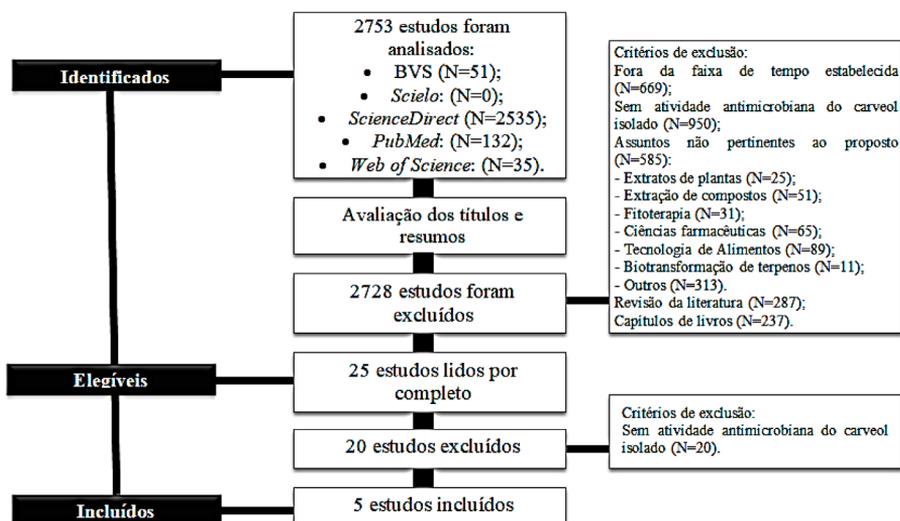


Figura 1. Processo de busca, seleção, inclusão e exclusão de artigos.

Fonte: dados coletados, 2020.

Extração de dados

Foram extraídas as seguintes variáveis: autor(es) e ano, tipo do microrganismo, espécie, identificação da cepa, inóculo, meio de cultura utilizado, método usado, concentrações de atividade, mecanismo de ação, e outras informações necessárias acerca das metodologias analisadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 2753 artigos recuperados nas bases de dados, apenas 5 foram selecionados para compor os resultados do estudo, sendo estes, evidenciados na tabela 1.

A atividade antimicrobiana do carveol foi verificada contra 13 (N) microrganismos presentes em distintos gêneros de bactérias (N=8) e fungos (N=5) (figura 2).

Espécies pertencentes ao gênero *Candida*, destacaram-se, devido serem os organismos mais estudados, apresentando um percentual de 30,70% (N=4), subsequentes às linhagens de *Escherichia* e *Staphylococcus*, ambas com as mesmas porcentagens, correspondentes a 23,10% (N=3).

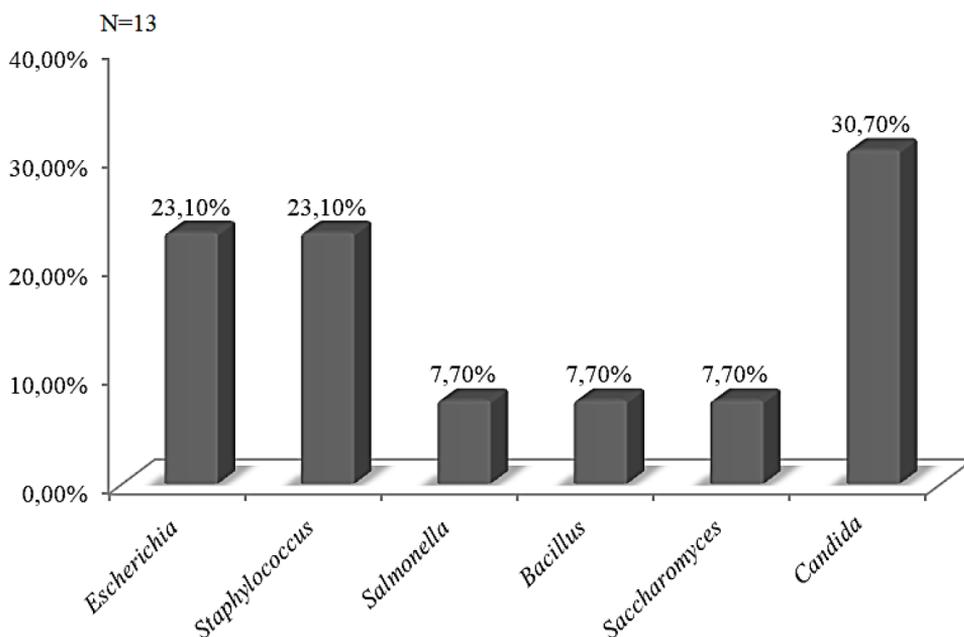


Figura 2. Percentual de cepas sensíveis ao carveol, classificadas por gênero. Fonte: dados da pesquisa, 2020.

Tabela 1. Atividade antimicrobiana do carneol.

Número	Autores (as) e ano	Tipo de microrganismo	Espécie	Identificação	Inóculo	Método	Meio de cultura	Concentração Inibitória Mínima
1	Borges <i>et al.</i> (2017) [26]	Bactéria	<i>Escherichia coli</i>	CECT-434*	1 × 10 ⁶ células/mL	Microdiluição	CMH**	200 µg/mL
	Borges <i>et al.</i> (2017) [26]	Bactéria	<i>Staphylococcus aureus</i>	CECT- 976*	1 × 10 ⁶ células/mL	Microdiluição	CMH**	2000 µg/mL
2	Guimarães <i>et al.</i> (2019) [20]	Bactéria	<i>Escherichia coli</i>	ATCC-8739***	0,5 McFarland	Microdiluição	CMH**	60 µg/mL
	Guimarães <i>et al.</i> (2019) [20]	Bactéria	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC-25923***	0,5 McFarland	Microdiluição	CMH**	15 µg/mL
	Guimarães <i>et al.</i> (2019) [20]	Bactéria	<i>Salmonella Typhimurium</i>	ATCC-14028***	0,5 McFarland	Microdiluição	CMH**	30 µg/mL
	Guimarães <i>et al.</i> (2019) [20]	Bactéria	<i>Bacillus cereus</i>	ATCC-14579***	0,5 McFarland	Microdiluição	CMH**	120 µg/mL
	Lopez-Romero <i>et al.</i> (2015) [27]	Bactéria	<i>Escherichia coli</i>	CECT-434*	1 × 10 ⁶ células/mL	Microdiluição	CMH**	200 µg/mL
3	Lopez-Romero <i>et al.</i> (2015) [27]	Bactéria	<i>Staphylococcus aureus</i>	CECT- 976*	1 × 10 ⁶ células/mL	Microdiluição	CMH**	2000 µg/mL
	Konuk; Ergüden (2020) [28]	Fungo	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	YPH-499	1 × 10 ⁶ CFU/mL	Disco-difusão	Caldo YPD****	10 – 20 mM
5	Montenegro <i>et al.</i> (2019) [29]	Fungo	<i>Candida glabrata</i>	10912*****	0,5 McFarland	Microdiluição	RPMI 1640	> 16 µg/mL
	Montenegro <i>et al.</i> (2019) [29]	Fungo	<i>Candida lusitanae</i>	2305*****	0,5 McFarland	Microdiluição	RPMI 1640	> 16 µg/mL
	Montenegro <i>et al.</i> (2019) [29]	Fungo	<i>Candida guilliermondii</i>	2204*****	0,5 McFarland	Microdiluição	RPMI 1640	> 16 µg/mL
	Montenegro <i>et al.</i> (2019) [29]	Fungo	<i>Candida albicans</i>	10935*****	0,5 McFarland	Microdiluição	RPMI 1640	> 16 µg/mL

*Spanish Type Culture Collection; **Caldo Muller Hinton; ***American Type Culture Collection; ****Yeast extract – Peptone – Dextrose; *****Coleção do Laboratório de Microbiologia Clínica, Faculdade de Medicina, Universidade de Valparaíso. Fonte: dados da pesquisa, 2020.

A resistência desses micróbios aos fármacos antimicrobianos, contribuem como uma justificativa ao interesse na obtenção de novas substâncias quimioterápicas, visto que representam um problema de saúde pública, em decorrência de propiciarem ao aumento da taxa de mortalidade e morbidade. Além disso, são considerados patógenos responsáveis por ocasionar a infecções nosocomiais e oportunistas, sendo assim de grande importância clínica [30-33].

Dessa forma, para avaliação da atividade antimicrobiana do carveol é fundamental a realização de testes *in vitro*, através do uso de diversas metodologias, que podem ser visualizadas na figura 3.

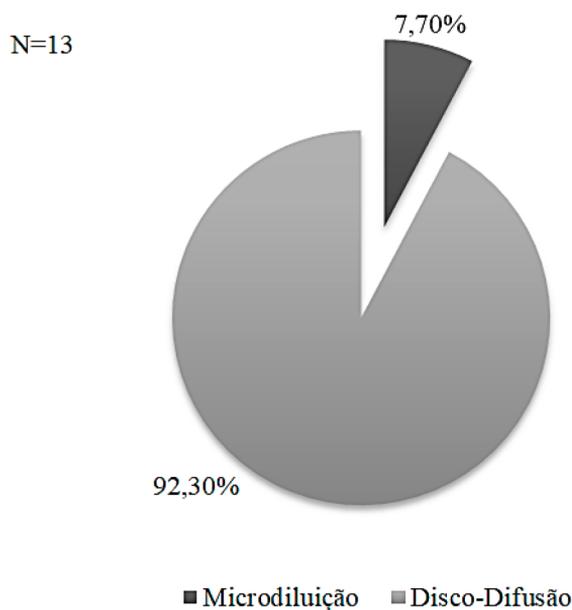


Figura 3. Técnicas de diluição e difusão (em porcentagem) utilizadas para avaliar o potencial antimicrobiano do carveol. Fonte: dados da pesquisa, 2020.

A microdiluição (93, 20% / N=12) em caldo (MDC) foi o aplicado na maior parte dos artigos inclusos. O teste de MDC permite investigar o potencial bioativo de várias substâncias, empregando pequenas quantidades do composto em diferentes concentrações e dispondo de uma elevada sensibilidade e precisão [34, 35], vantagens estas, pelas quais podem ter colaborado com relação a escolha dos pesquisadores para a mencionada metodologia.

A técnica de disco-difusão foi utilizada em apenas um estudo (7, 7%), provavelmente por ser um método trabalhoso e que requer alto custo e maior espaço em laboratório para sua execução [36].

Entretanto, ambos os procedimentos são relevantes e necessários para determinação da concentração inibitória mínima (CIM), em que é definida como a menor concentração do composto-teste capaz de inibir o crescimento visível do patógeno [37]. Os resultados a respeito dos valores da CIM estão expressos em percentagem na figura 4.

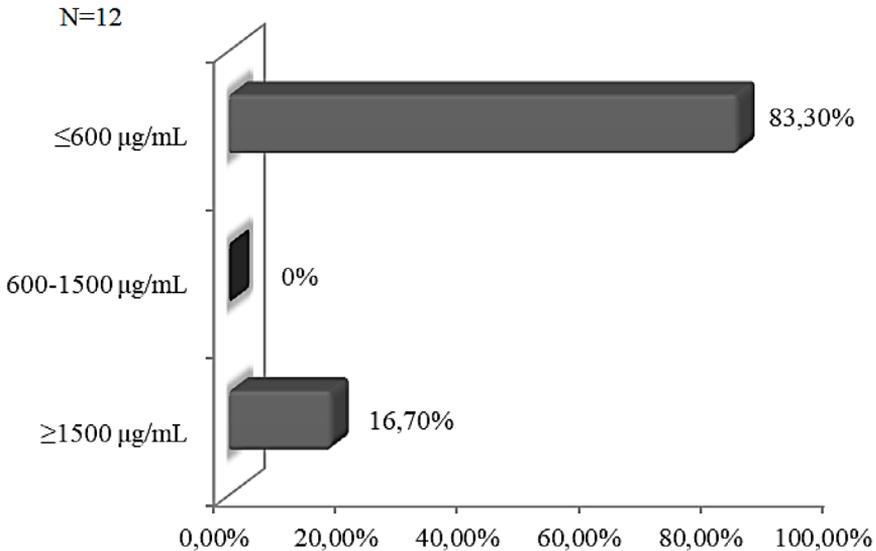


Figura 4. Valores da concentração inibitória mínima por percentagem para diferentes organismos utilizando o método de microdiluição. Fonte: dados da pesquisa, 2020.

A maioria das cepas observadas nos estudos apresentaram sensibilidade ao carveol, com uma CIM correlata a valores $\leq 600 \mu\text{g/mL}$ (83,30% / N=10), seguida das concentrações $\geq 1500 \mu\text{g/mL}$ (16,70% / N=2). Portanto, o carveol apresenta atividade antimicrobiana satisfatória, tendo em vista os valores das CIM serem iguais ou inferiores a $600 \mu\text{g/mL}$ [38, 39].

Dentre os métodos pelos quais podem ser utilizados para determinação da capacidade microbicida de um produto natural ou sintético, apenas o da concentração bactericida mínima foi realizado nos trabalhos selecionados, sendo assim seus dados demonstrados na tabela 2.

Tabela 2. Atividade microbicida do carveol.

Número	Autores (as) e ano	Tipo de microrganismo	Espécie	Identificação	Método	Meio de cultura	Concentração microbicida mínima
1	Guimarães <i>et al.</i> (2019) [20]	Bactéria	<i>Escherichia coli</i>	ATCC-8739*	CBM **	AMH***	250 µg/mL

(Continue)

Número	Autores (as) e ano	Tipo de microrganismo	Espécie	Identificação	Método	Meio de cultura	Concentração microbicida mínima
2	Lopez-Romero <i>et al.</i> (2015) [27]	Bactéria	<i>Escherichia coli</i>	CECT-434****	CBM **	AMH***	1500 µg/mL
	Lopez-Romero <i>et al.</i> (2015) [27]	Bactéria	<i>Staphylococcus aureus</i>	CECT-976****	CBM **	AMH***	2500 µg/mL

American Type Culture Collection*; **Concentração Bactericida Mínima; *Ágar Muller Hinton; *****Spanish Type Culture Collection*. Fonte: dados da pesquisa, 2020.

O carveol foi efetivo a bactéria, *Escherichia coli* (ATCC-8739), com uma concentração referente a 250 µg/mL. O oposto se verificou nas cepas de *Escherichia coli* (CECT-434) e *Staphylococcus aureus* (CECT- 976), em que demonstraram concentrações de 1500 e 2500 µg/mL, respectivamente.

A CBM compreende a menor concentração do bioativo responsável por promover a morte bacteriana. Posto isto, em tratamentos destinados a enfermos imunodeficientes, é bastante proveitoso os valores desse método [40-42]. No entanto, é necessário a realização de outros experimentos utilizando modelos animais para uma elucidação melhor da atividade antimicrobiana em organismos vivos, a fim de assegurar a qualidade e segurança da terapia nesses casos.

Outros ensaios válidos são os métodos de *checkboard* e o *time-kill*. O método de *checkboard* proporciona a análise do efeito antimicrobiano originado a partir da associação entre a substância testada e um fármaco antibacteriano ou antifúngico padrão [43]. Entretanto, no acervo científico disponível não foi encontrado nenhum estudo acerca da aplicação dessa metodologia com o carveol.

A técnica de *time-kill*, por sua vez, demonstra a ação microbicida do composto testado por um período, o qual contém uma maior sensibilidade e custo [44]. Na tabela 3, pode ser verificada a cinética do carveol referente à atividade bactericida, quanto a fungicida, nenhum trabalho na literatura foi encontrado.

Tabela 3. Cinética da atividade microbicida do carveol.

Número	Autores (as) e ano	Espécie	Identificação	Inóculo	Meio de cultura	Método	Concentrações avaliadas (CIM =60 µg/mL)	Tempo (horas)	Log CFU/mL
1	Guimarães <i>et al.</i> (2019) [20]	<i>Escherichia coli</i>	ATCC-8739 ^a	5 × 10 ⁸ UFC/mL	AMH ^a	<i>Time-kill</i>	Controle	0 2 4 8 12 24	6 >6 >6 >6 >6 >6
							CIM ^{***}	0 2 4 8 12 24	6 >6 >6 >6 >6 >6
							2 x CIM ^{***}	0 2 4 8 12 24	6 6 <6 >4 0 0
							4 x CIM ^{***}	0 2 4 8 12 24	6 0 0 0 0 0

^a American Type Culture Collection; ^{**} Ágar Muller Hinton; ^{***} Concentração Inibitória Mínima. Fonte: dados da pesquisa, 2020.

O carveol não ocasionou a morte de *Escherichia coli* (ATCC-8739) na CIM, entretanto foi bastante eficaz na concentração de $4 \times \text{CIM}$, o qual diminuiu o número de unidades formadoras de colônias (UFC) em $6 \log_{10}$ em 2 horas, apresentando uma atividade bactericida satisfatória. É notório enfatizar também que houve a presença de uma atividade do fitoconstituente na $2 \times \text{CIM}$, reduzindo a quantidade de UFC em $6 \log_{10}$ em 12 horas.

Óleos voláteis e seus constituintes se classificam em dois grupos: substâncias de ação lenta e substâncias de ação rápida [45]. Deste modo, mediante a avaliação dos dados constatados na tabela 3, nota-se que o carveol é categorizado como um composto de ação rápida, podendo ser vantajoso seu emprego em terapias que se almejem uma morte imediata do patógeno.

Uma alternativa aplicada, atualmente, para avaliar o potencial antimicrobiano, é o ensaio equivalente à atividade antibiofilme, o qual pode ser visualizada na tabela 4.

Tabela 4. Atividade antibiofilme do geraniol.

Número	Autores (as) e ano	Espécie	Identificação	Método	Concentração do carveol	Inibição do biofilme
1	Borges <i>et al.</i> (2017) [26]	<i>Escherichia coli</i>	CECT-434*	Método de quantificação de biomassa usando cristal de violeta e unidades formadoras de colônia (570 nm)	$2 \times \text{CIM}$ **	52%
					$5 \times \text{CIM}$ **	54%
					$10 \times \text{CIM}$ **	56%
	Borges <i>et al.</i> (2017) [26]	<i>Staphylococcus aureus</i>	CECT- 976*	Método de quantificação de biomassa usando cristal de violeta e unidades formadoras de colônia (570 nm)	$2 \times \text{CIM}$ **	56%
					$5 \times \text{CIM}$ **	60%
					$10 \times \text{CIM}$ **	67%

*Spanish Type Culture Collection; **Concentração inibitória mínima. Fonte: dados da pesquisa, 2020.

Carveol expressou uma ação antibiofilme moderada frente ao bacilo, *Escherichia coli* (CECT-434), inibindo 52%, 54% e 56% do biofilme bacteriano nas concentrações de $2 \times \text{CIM}$, $5 \times \text{CIM}$ e $10 \times \text{CIM}$, respectivamente. Quanto à atividade do terpeno frente à cepa de *Staphylococcus aureus* (CECT- 976), foi melhor, dado que apresentou percentuais de inibição maiores, sendo estes, de 52%, 60% e 67%, simultaneamente, as concentrações $2 \times \text{CIM}$, $5 \times \text{CIM}$ e $10 \times \text{CIM}$.

Tal efeito é importante, pois o biofilme caracteriza-se como um mecanismo de auto-defesa da bactéria, conseqüentemente, contribuindo para o desenvolvimento de sua resistência as drogas antibacterianas, o que contribui para uma piora no quadro clínico do indivíduo acometido [46].

A metodologia mais utilizada foi a de quantificação de biomassa usando cristal de violeta e UFC. Esta técnica é um método químico colorimétrico, pelo qual apresenta diversas vantagens, correspondentes à versatilidade, elevado rendimento e a não necessidade de serem destacados em um suporte, prevenindo uma contagem tendenciosa das colônias microbiológicas. Todavia, há limitações referentes à ausência da reprodutibilidade, falta de um protocolo padrão, além do procedimento poder estar relacionado a qualquer biomassa bacteriana aderida [47].

Ademais, o mecanismo de ação antimicrobiano do carveol, ainda é desconhecido. Contudo, estudos presentes na literatura tentam elucidá-los, permitindo-os descrever possíveis atuações, os quais podem ser analisados na tabela 5.

Após a obtenção e avaliação dos dados apresentados pelos estudos, foi evidenciado um consenso das hipóteses elaboradas pelos pesquisadores. Portanto, possivelmente o modo de ação antimicrobiano do carveol, dá-se mediante a sua capacidade de provocar danos à membrana celular do microrganismo (figura 5).

Provavelmente, o carveol, devido ao seu caráter lipofílico, atravessa a parede celular e interage com os lipídios encontrados na membrana plasmática do micróbio, tornando-as mais permeáveis (figura 5). A permeabilização da membrana citoplasmática bacteriana dá-se em razão da falta do trifosfato de adenosina (ATP), diminuição do potencial de ação, perda de íons e colapso de ATPases, como a bomba de sódio e potássio. Além disso, coagulam o citoplasma e provocam danos à parede e membrana celular, proporcionando a vazão de macromoléculas, assim como ao rompimento da célula [48, 49].

As bactérias Gram-positivas, quando comparadas as Gram-negativas, são mais vulneráveis as substâncias voláteis (como o carveol), pois são constituídas de uma camada de peptídeoglicano, embora espessa, não impossibilita a passagem desses compostos naturais; e favorecem a entrada de substâncias, através das partes hidrofóbicas dos ácidos lipoteicóicos, encontrados na membrana celular. As Gram-negativas, por sua vez, colaboram para uma limitada difusão destes produtos naturais, devido à presença de uma membrana celular externa mais complexa e resistente, sendo abundantemente formadas de lipopolissacarídeos [50].

Além dos mecanismos mencionados, nos fungos, os terpenos ainda podem promover a inibição da síntese do ergosterol. O ergosterol é um lipídeo presente na membrana plasmática destes microrganismos, sendo assim responsável pelo controle de sua fluidez e permeabilização, conseqüentemente, a perda desta estrutura lipídica contribuirá para o aumento da permeabilidade da membrana [51, 52].

Geralmente, a citotoxicidade dos óleos essenciais ocorre, sobretudo, na existência de álcoois, fenóis e aldeídos em sua composição. Logo, a radical hidroxila pertinente ao

Tabela 5. Mecanismo de ação da atividade antimicrobiana do carveol.

Número	Autores (as) e ano	Tipo de microrganismo	Espécie	Identificação	Método	Parâmetros analisados	Efeitos ao microbio	Possível mecanismo de ação
1	Guimarães <i>et al.</i> (2019)	Bactéria	<i>Escherichia coli</i>	ATCC-8739*	MEV**	Morfologia	Células apresentaram formas irregulares com detritos.	Interrompendo a divisão celular ou a disfunção da membrana celular.
2	Lopez-Romero <i>et al.</i> (2015)	Bactéria	<i>Escherichia coli</i>	CECT-434**	Caracterização físico-química de superfícies bacterianas. Potencial Zeta Captação de iodeto de Propídio. Vazamento de potássio	Grav de hidrofbicidade, tensão superficial e componentes polares e apolares. Carga superficial Avaliação da integridade da membrana. Permeabilidade da membrane	A superfície celular ficou mais hidrofílica, componentes apolares não se modificaram; polares reduziram; acetador de elétrons reduziram; e o doadores de elétrons aumentaram. Células ficaram menos negativas Dano a membrana, íons adentraram na célula, corando-as em 32%. Não houve perda de potássio	Interagem fortemente com os constituintes da superfície celular, liga-se à superfície celular, formando uma monocamada ao redor da célula que modifica o potencial eletrostático e a hidrofbicidade e, portanto, desestabiliza a integridade da membrana, resultando na liberação de componentes celulares internos.
	López-Romero <i>et al.</i> (2015)	Bactéria	<i>Saphylococcus aureus</i>	CECT- 976***	Potencial Zeta Captação de iodeto de Propídio Vazamento de potássio	Carga superficial Avaliação da integridade da membrana Permeabilidade da Membrana	Dano a membrana, íons adentraram na célula, corando-as em 44%. Não houve perda de potássio intracelular	Interagem fortemente com os constituintes da superfície celular, liga-se à superfície celular, formando uma monocamada ao redor da célula que modifica o potencial eletrostático e a hidrofbicidade e, portanto, desestabiliza a integridade da membrana, resultando na liberação de componentes celulares internos.
3	Konuk; Egişden (2020)	Fungo	<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	YPH499	Medição do pH extracelular Medição da condutividade extracelular Medição da liberação do material celular	Permeabilidade da membrana Permeabilidade da membrana Avaliação da integridade da membrana	Aumentou o pH Pertubou levemente a membrana Vazamento de íons	Perturbar a integridade da membrana celular, causando o vazamento de íons, resultando na morte celular.

* American Type Culture Collection; ** Microscopia Eletrônica de Varredura; *** Spanish Type Culture Collection. Fonte: dados da pesquisa, 2020.

monoterpeno estudado é fundamental a sua atividade antimicrobiana, uma vez que eleva sua lipofilicidade e é necessário para formação de ligações de hidrogênio e liberação de prótons, os quais são relevantes para acarretar a morte do patógeno [49, 53].

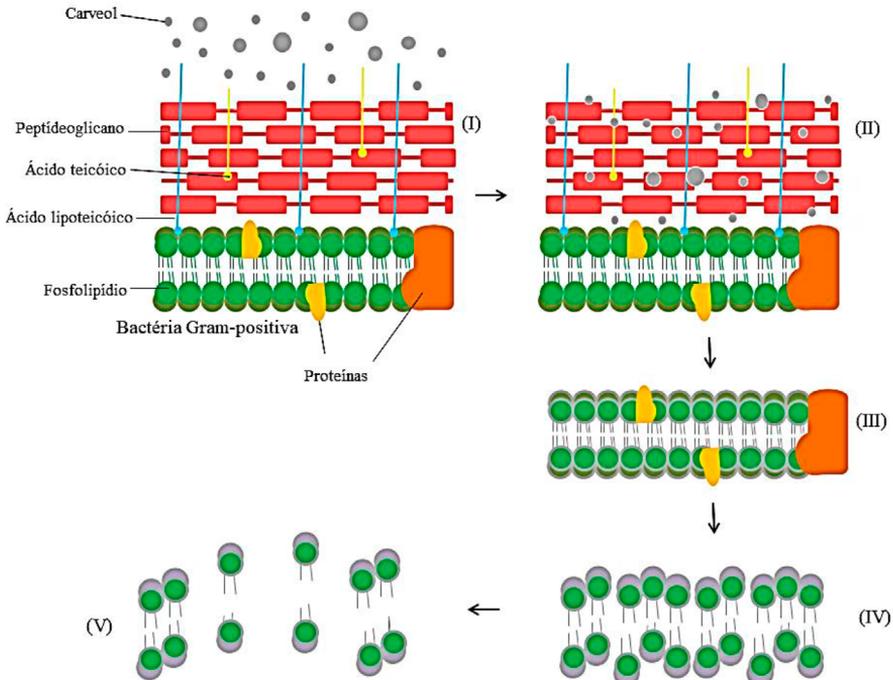


Figura 5. Representação gráfica do possível mecanismo de ação antimicrobiana do carveol. (I) O carveol interage com a superfície externa da bactéria; (II) Atravessando-a; (III) Ao chegar à membrana celular do microrganismo, mistura-se a mesma, tornando-a permeável; (IV) Em seguida, há a destruição de estruturas celulares; (V) Danos graves e irreversíveis que propiciam a ruptura da membrana celular, o que provocará a morte do micróbio. Fonte: própria autoria, 2021.

CONCLUSÃO

Diante do exposto, foi verificada uma promissora atividade antimicrobiana do carveol, em que 13 cepas de diferentes espécies foram sensíveis ao mesmo. Além disso, *Staphylococcus*, *Escherichia* e *Candida* correspondem aos gêneros mais estudados.

A técnica de microdiluição em caldo compreendeu a metodologia mais utilizada para a determinação de sua ação. Em relação à CIM, para a maioria das espécies, foram excelentes. Sobre o ensaio de *Time-kill*, o carveol possuiu ótima performance na concentração de $4 \times \text{CIM}$, o qual evidenciou-se a redução das UFC em $6 \log_{10}$ em 2 horas.

Nenhum estudo foi encontrado na literatura acerca da utilização do método de *Chechboard*. No mais, este composto teve uma boa atividade antibiofilme à bactéria, *Staphylococcus aureus*.

Quanto ao possível mecanismo de ação da atividade antimicrobiana do carveol, dá-se mediante aos graves danos causados nas membranas citoplasmáticas, o que promoverá a lise celular. Dessa forma, poucos estudos no acervo científico disponível abordam sobre o assunto, sendo assim necessário a realização de mais estudos *in vitro* e *in vivo* para uma melhor elucidação de sua ação.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores não relatam nenhum conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

1. F.M. Carneiro, M.J.P. Silva, L.L. Borges, L.C. Albernaz, J.D.P. Costa, Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil, *Rev. Sapiência*, **3**(2), 44-75 (2014).
2. P. Wangchuck, T. Tobgay, Contributions of medicinal plants to the Gross National Happiness and Biodiscovery in Bhutan, *J. Ethnobiol. Ethnomed.*, **11**, 48 (2015).
3. M.A. Aziz, M. Adnan, A.H. Khan, A.A. Shahat, M.S. Al-Said, R. Ullah, Traditional uses of medicinal plants practiced by the indigenous communities at Mohmand Agency, FATA, Pakistan, *J. Ethnobiol. Ethnomed.*, **14**(1), 2 (2018).
4. C.A.S.F. Miranda, M.G. Cardoso, L.R. Batista, L.M.A. Rodrigues, A.C.S. Figueiredo, Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas, *Rev. Ciênc. Agron.*, **47**(1), 213-220 (2016).
5. N.V. Busato, J.C. Silveira, A.O.S. Costa, E.F. Costa Junior, E.F. Estratégias de modelagem da extração de óleos essenciais por hidrodestilação e destilação a vapor, *Ciênc. Rural*, **44**(9), 1574-1582 (2014).
6. R.O.M. Silva, J.W.G. Castro, O.M. Dantas Junior, A.C.J. Araújo, M.K.N.S. Leandro, R.J.O. Costa, L.L. Pinto, L.M.G. Leandro, L.E. Silva, W. Amaral, L.D. Parabocz, A.P. Ferriani, B. Garcia, B.H.L.N.S. Maia, J.E. Rocha, C.F. Bezerra, T.S. Freitas, M.S. Costa, F.F. Campina, E.F.F. Matias, M. Iriti, H.D.M. Coutinho, Photoinduced antibacterial activity of the essential oils from *Eugenia brasiliensis* Lam and *Piper mosenii* C. DC. by blue led light, *Antibiotics*, **8**(4), 242 (2019).

7. E.C. Luna, I.S. Luna, L. Scotti, A.F.M. Monteiro, M.T. Scotti, R.O. Moura, R.S.A. Araújo, K.L.C. Monteiro, T.M. Aquino, F.F. Ribeiro, F.J.B.M. Medonça Junior, Active essential oils and their components in use against neglected diseases and arboviruses, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2019**, 6587150 (2019).
8. S.P. Matos, H.F. Teixeira, A.A.N. Lima, V.F. Veiga-Junior, L.S. Koester, Essential oils and isolated terpenes in nanosystems designed for topical administration: A review, *Biomolecules*, **9**(4), 138 (2019).
9. A.C. Huang, A. Osbourn, Plant terpenes that mediate below ground interactions: prospects for bioengineering terpenoids for plant protection, *Pest Manag. Sci.*, **75**(9), 2368-2377 (2019).
10. M.H.P. Lira, F.P. Andrade Júnior, G.F.Q. Moraes, G.S. Macena, F.O. Pereira, I.O. Lima, Antimicrobial activity of geraniol: an integrative review, *J. Essent. Oil Res.*, **32**(3), 187-197 (2020).
11. S. Habtemariam, Antidiabetic potential of monoterpenes: a case of small molecules punching above their weight, *Int. J. Mol. Sci.*, **19**(1), 4 (2018).
12. E.B. Pinto, C.M.M. Neri, A.A. Oliveira Filho, N.B. Pinto, Avaliação do potencial tóxico dos monoterpenos carvacrol, linalol e p-cimeno: uma abordagem *in silico*, *Revista Interdisciplinar em Saúde*, **2**(2), 210-224 (2015).
13. G.-F. Mao, X.-C. Mo, H. Fouad, G. Abbas, J.-C. Mo, Attraction behaviour of *Anagrus nilaparvatae* to remote lemongrass (*Cymbopogon distans*) oil and its volatile compounds, *Nat. Prod. Res.*, **32**(5), 514-520 (2017).
14. A.C. Cardoso-Teixeira, F.W. Ferreira-da-Silva, D. Peixoto-Neves, K. Oliveira-Abreu, A. Pereira-Gonçalves, A.N. Coelho-de-Souza, J.H. Leal-Cardoso, Hydroxyl group and vasorelaxant effects of perillyl alcohol, carveol, limonene on aorta smooth muscle of rats, *Molecules*, **26**(6), 1430 (2018).
15. B. Mahdavi, W.A. Yaacob, L.B. Din, Chemical composition, antioxidant, and antibacterial activity of essential oils from *Etilingera sayapensis* A.D. Poulsen & Ibrahim, *Asian Pac. J. Trop. Med.*, **10**(8), 819-826 (2017).
16. A.I. Hussain, F. Anwar, M. Shahid, M. Ashraf, R. Przybylski, Chemical composition, and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of spearmint (*Mentha spicata* L.) from Pakistan, *J. Essent. Oil Res.*, **22**(1), 78-84 (2010).

17. N. Kaur, K.K. Chahal, A. Kumar, R. Singh, U. Bhardwaj, Antioxidant activity of *Anethum graveolens* L. essential oil constituents and their chemical analogues, *J. Food Biochem.*, **43**(4), e12782 (2019).
18. R.E.R. Silva, A.A. Silva, L. Pereira-de-Morais, N.S. Almeida, M. Iriti, M.R. Kerntopf, I.R.A. Menezes, H.D.M. Coutinho, R. Barbosa, Relaxant effect of monoterpene (-)-carveol on isolated human umbilical cord arteries and the involvement of ion channels, *Molecules*, **25**(11), 2681 (2020).
19. Y. Lozon, A. Sultan, S.J. Lansdell, T. Prytkova, B. Sadek, K.-H.S. Yang, F.C. Howarth, N.S. Millar, M. Oz, Inhibition of human $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors by cyclic monoterpene carveol, *Eur. J. Pharmacol.*, **5**, 44-51 (2016).
20. A.C. Guimarães, L.M. Meireles, M.F. Lemos, M. Guimarães, D.C. Endringer, M. Fronza, R. Scherer, Antibacterial activity of terpenes and terpenoids present in essential oils, *Molecules*, **24**(13), 2471 (2019).
21. F.M. Marques, M.M. Figueira, E.F.P. Schmitt, T.P. Kondratyuk, D.C. Endringer, R. Scherer, M. Fronza, *In vitro* anti-inflammatory activity of terpenes via suppression of superoxide and nitric oxide generation and the NF- κ B signalling pathway, *Inflammopharmacology*, **27**(2), 281-289 (2019).
22. S. Echeverrigaray, J. Zacaria, B. Beltrão, Nematicidal activity of monoterpeneoids against the root-knot nematode *meloidogyne incognita*, *Phytopathology*, **100**(2), 199-203 (2010).
23. M. Bordoloi, S. Saikia, B. Kolita, R. Sarmah, S. Roy, B. Narzary, Volatile inhibitors of phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) pathway: anticancer potential of aroma compounds of plant essential oils, *Anticancer Agents Med. Chem.*, **18**(1), 87-109 (2018).
24. J.C.R. Gonçalves, A.M.H. Alves, A.E.V. Araújo, J.S. Cruz, D.A.M. Araújo, Distinct effects of carvone analogues on the isolated nerve of rats, *Eur. J. Pharmacol.*, **645**(1-3), 108-112 (2010).
25. C.B.B. Oliveira, M.C. Ribeiro, A.D'a Lima, M.F. Faria, G.M. Ravanholi, L.M. Lopes, K.M.J. Souza, A.A. Monroe, Experiências de adoecimento por condições crônicas transmissíveis: revisão integrativa da literatura, *Saude Soc.*, **26**(2), 510-520 (2017).
26. A. Borges, J.C. Lopez-Romero, D. Oliveira, E. Giaouris, M. Simões, Prevention, removal and inactivation of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* biofilms using selected monoterpenes of essential oils, *J. Appl. Microbiol.*, **123**, 104-105 (2017).

27. J.C. Lopez-Romero, H. González-Ríos, A. Borges, M. Simões, Antibacterial effects and mode of action of selected essential oils components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, *Evid. Based Complement. Altern. Med.*, **2015**, 795435 (2015).
28. H.B. Konuk, B. Ergüden, Phenolic –OH group is crucial for the antifungal activity of terpenoids via disruption of cell membrane integrity, *Folia Microbiol. (Praha)*, **65**(4), 775-783 (2020).
29. I. Montenegro, M. Mellado, A. Russo, B. Said, X. Besoain, P. Godoy, E. Werner, N. Caro, A. Madrid, Carveoylphenols and their antifungal potential against pathogenic yeasts, *Antibiotics (Basel)*, **8**(4), 185 (2019).
30. E.B. Nunes, N.B. Nunes, J.C.M.S. Monteiro, A.L.V. Paes, Perfil de sensibilidade do gênero *Candida* a antifúngicos em um hospital de referência da Região Norte do Brasil, *Rev. Pan-American. Saúde*, **2**(4), 23-30 (2011).
31. L.L. Kadosaki, S.F. Souza, J.C.M. Borge, Análise do uso e da resistência bacteriana aos antimicrobianos em nível hospitalar, *Rev. Bras. Farm.*, **93**(2), 128-135 (2012).
32. L. Cordeiro, P. Figueiredo, H. Souza, A. Sousa, F. Andrade-Júnior, J. Barbosa-Filho, E. Lima, Antibacterial and antibiofilm activity of myrtenol against *Staphylococcus aureus*, *Pharmaceuticals*, **13**(6), 133 (2020).
33. F. He, W. Wanga, M. Wua, Y. Fanga, S. Wanga, Y. Yang, C. Yed, F. Xiang, Antioxidant and antibacterial activities of essential oil from *Atractylodes lancea* rhizomes, *Ind. Crop. Prod.*, **153**, 112552 (2020).
34. C.M. de-Souza-Silva, F. Guilhelmelli, D. Zamith-Miranda, M.A. Oliveira, J.D. Nosanchuk, I. Silva-Pereira, P. Albuquerque, Broth microdilution *in vitro* screening: an easy and fast method to detect new antifungal compounds, *J. Vis. Exp.*, **132**, 57127 (2018).
35. A. Veiga, M.G.T. Toledo, L.S. Rossa, M. Mengarda, N.C.F. Stofella, L.J. Oliveira, A.G. Gonçalves, F.S. Murakami, Colorimetric microdilution assay: Validation of a standard method for determination of MIC, IC50%, and IC90% of antimicrobial compounds, *J. Microbiol. Methods*, **162**, 50-31 (2019).
36. E.A.M. Bona, F.G.S. Pinto, T.K. Fruct, T.C.M. Jorge, A.C. Moura, Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos, *Arq. Inst. Biol.*, **81**(3), 218-225 (2014).

37. M.S.A. Silva, M.A.R. Silva, J.S. Higino, M.S.V. Pereira, A.A.T. Carvalho, Atividade antimicrobiana e antiaderente *in vitro* do extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn. sobre bactérias orais planctônicas, *Rev. Bras. Farmacogn.* **18**(2), 236-240 (2008).
38. R. Scherer, R. Wagner, M.C.T. Duarte, H.T. Godoy, Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa, *Rev. Bras. Plantas Med.*, **11**(4), 442-449 (2009).
39. A. Sartoratto, A.L.M. Machado, C. Delarmelina, G. M. Figueira, M.C.T. Duarte, V.L.G. Rehder, Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil, *Braz. J. Microbiol.*, **35**, 275-280 (2004).
40. I.B. Suffredini, A.D. Varella, R.N. Younes, Concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima de três extratos vegetais antibacterianos selecionados da Floresta Amazônica e da Mata Atlântica brasileiras, *J. Health Sci. Inst.*, **25**(2), 127-129 (2007).
41. T.B. Dantas, *Atividade antifúngica in vitro de timol sobre cepas do gênero Penicillium*, dissertação, Universidade Federal da Paraíba, 2013, p. 1-100.
42. E. Bancalari, F. Martelli, V. Bernini, E. Neviani, M. Gatti, Bacteriostatic or bactericidal? Impedometric measurements to test the antimicrobial activity of *Arthrospira platensis* extract, *Food Control*, **118**, 107380 (2020).
43. G. Mitchell, M. Lafrance, S. Boulanger, D.L. Séquin, I. Guay, M. Gattuso, E. Marsault, K. Bouarab, F. Malouin, Tomatidine acts in synergy with aminoglycoside antibiotics against multiresistant *Staphylococcus aureus* and prevents virulence gene expression, *J. Antimicrob. Chemother.*, **67**(3), 559-568 (2012).
44. M.R. Rosatto, *Determinação da atividade antimicrobiana in vitro de extratos, frações e compostos isolados de Arrabidaea brachypoda*, dissertação, Universidade Estadual Paulista, 2012, p. 1-101.
45. M. Friendman, P.R. Henika, C.E. Levin, R.E. Mandrell, Antibacterial activities of plant essential oils and their components against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* in apple juice, *J. Agric. Food Chem.*, **52**(19), 6042-6048 (2004).
46. T.T. Nader, J.S. Coppede, S.H. Taleb-Contini, L.A. Amaral, A.M. Pereira, Atividade antibiofilme de substâncias de *Croton urucurana* em *Staphylococcus aureus* isolado de mastite bovina, *Pesq. Vet. Bras.*, **38**(9), 1713-1719 (2018).

47. J. Azeredo, N.F. Azevedo, R. Briandet, N. Cerca, T. Coenye, A.R. Costa, M. Desvaux, G.D. Bonaventura, M. Hébraus, Z. Jaglic, M. Kačániová, S. Knöchel, A. Lourenço, F. Mergulhão, R.L. Meyer, G. Nychas, M. Simões, O. Tresse, C. Sternberg, Critical review on biofilm methods, *Crit. Rev. Microbiol.*, **43**(3), 313-351 (2017).
48. H.D.M. Coutinho, M.A. Freitas, C.N.F.L. Gondim, R.S. Albuquerque, J.V.A. Ferreira, J.C. Andrade, *In vitro* antimicrobial activity of geraniol and caryophyllene against *Staphylococcus aureus*, *Rev. Cubana Plant. Med.*, **20**(1), 98-105 (2015).
49. F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, M. Idaomar, Biological effects of essential oils – A review, *Food Chem. Toxicol.*, **46**, 446-475 (2008).
50. S. Chouhan, K. Sharma, S. Guleria, Antimicrobial activity of some essential oils –present status and future perspectives, *Medicines*, **4**(3), 58 (2017).
51. A. Luchini, R. Delhom, V. Cristiglio, W. Knecht, H. Wacklin-Knecht, G. Fragneto, Effect of ergosterol on the interlamellar spacing of deuterated yeast phospholipid multilayers, *Chem. Phys. Lipids*, **227**, 104873 (2020).
52. R.S.N. Brilhante, E.P. Caetano, R.A.C. Lima, F.J.F. Marques, D.S.C.M. Castelo-Branco, C.V.S. Melo, G.M.M. Guedes, J.S. Oliveira, Z.P. Camargo, J.L.B. Moreira, A.J. Monteiro, T.J.P.G. Bandeira, R.A. Cordeiro, M.F.G. Rocha, J.J.C. Sidrim, Terpinen-4-ol, tyrosol, and -lapachone as potential antifungals against dimorphic fungi, *Braz. J. Microbiol.*, **47**, 917-924 (2016).
53. K. Wang, S. Jiang, T. Pu, L. Fan, F. Su, M. Ye, Antifungal activity of phenolic monoterpenes and structure-related compounds against plant pathogenic fungi, *Nat. Prod. Res.*, **33**(10), 1423-1430 (2018).

COMO CITAR ESTE ARTIGO

G.F. Queiroga-Moraes, G.M. Santos, F.M. de Araújo-Castro, I. Oliveira-Lima, O potencial antimicrobiano do carveol: uma revisão integrativa, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **50**(3), 851-871 (2021).