

Comparação entre métodos de difusão em ágar e microdiluição na avaliação da atividade antimicrobiana.

Beatriz Alves Barboza, Técnico em Agropecuária, CEEP Agrícola, Brasil

Cibeli Vitoria Glatz Marques, Técnico em Agropecuária, CEEP Agrícola, Brasil

Jhenyfer Cauany Ribeiro Damaceno, Técnico em Agropecuária, CEEP Agrícola, Brasil

Maria Clara Defendi, Técnico em Agropecuária, CEEP Agrícola, Brasil

Adriely Cristina dos Santos Wenneck, Nutrição, CEEP Agrícola, Brasil,
adrielycristinads@gmail.com

INTRODUÇÃO

A crescente resistência de microrganismos aos antimicrobianos disponíveis tem se tornado um problema relevante de saúde pública, estimulando a busca por novos agentes eficazes e menos tóxicos. Nesse contexto, os produtos naturais, especialmente os extratos de plantas medicinais, destacam-se como importantes fontes de compostos com potencial antimicrobiano, sendo amplamente investigados em estudos científicos. Conforme demonstrado por Amparo et al. (2018) e Alves et al. (2019), esses compostos apresentam relevante atividade frente a diferentes microrganismos.

Diversos métodos têm sido empregados para avaliar a atividade antimicrobiana desses extratos, dentre os quais se destacam os testes de difusão em ágar e os métodos de diluição, como a microdiluição em caldo. O método de difusão em ágar é amplamente utilizado para triagem inicial da atividade antimicrobiana, baseando-se na formação de halos de inibição do crescimento microbiano, sendo também aplicado em estudos com extratos vegetais e produtos naturais, como relatado por Bona et al. (2014) e Alves et al. (2019).

Por outro lado, os métodos de diluição permitem uma análise quantitativa da atividade antimicrobiana por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), sendo considerados mais sensíveis, reprodutíveis e confiáveis. De acordo com Pereira et al. (2022) e Sa (2026), tais métodos possibilitam uma avaliação mais precisa da eficácia dos compostos testados, contribuindo para a comparação entre diferentes substâncias e condições experimentais.

Entretanto, apesar da ampla utilização dessas metodologias, observa-se uma significativa ausência de padronização nos procedimentos experimentais, o que dificulta a comparação e a reprodutibilidade dos resultados obtidos por diferentes pesquisadores. Fatores como variações metodológicas, tipo de microrganismo, condições de cultivo e características dos extratos podem interferir diretamente nos

resultados, conforme discutido por Cunha (2016), Gaspar et al. (2017) e Amparo et al. (2018).

Nesse sentido, a realização de estudos comparativos entre métodos torna-se relevante, uma vez que contribui para a padronização das análises e para a obtenção de resultados mais confiáveis. Além disso, tal abordagem possui importância tanto no âmbito acadêmico quanto no contexto profissional, ao subsidiar o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos mais eficazes e seguros.

Assim, o presente trabalho tem como objetivo comparar os métodos de difusão em ágar e microdiluição na avaliação da atividade antimicrobiana, destacando suas principais características, vantagens, limitações e fatores que podem influenciar os resultados obtidos.

METODOLOGIA

O trabalho consiste em uma revisão de literatura, de caráter descritivo e qualitativo, com o objetivo de analisar e comparar os métodos de difusão em ágar e microdiluição em caldo na avaliação da atividade antimicrobiana. Foram utilizados artigos científicos que abordam essas metodologias aplicadas a extratos vegetais, compostos naturais e substâncias sintéticas (PEREIRA et al., 2022). Essa abordagem permite reunir e interpretar resultados de diferentes estudos, ampliando a compreensão das técnicas microbiológicas.

A pesquisa incluiu estudos sobre microrganismos de interesse clínico, como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, amplamente utilizados em testes devido à sua relevância em infecções humanas (CUTRIM et al., 2019; GUIMARÃES et al., 2017). A análise dos artigos considerou princípios metodológicos, execução dos testes, interpretação dos resultados, além de vantagens e limitações dos métodos. Entre as técnicas mais utilizadas destacam-se a difusão em ágar e os métodos de diluição (BONA et al., 2014; BALOUÍRI et al., 2016; PEREIRA et al., 2022).

O método de difusão em ágar baseia-se na inoculação do microrganismo em meio sólido, com aplicação do agente antimicrobiano por discos ou poços, formando halos de inibição que indicam atividade antimicrobiana (BONA et al., 2014). A interpretação ocorre pela medição desses halos e comparação com padrões que classificam os microrganismos (BRCast, 2019).

Já a microdiluição em caldo utiliza diluições seriadas do agente em meio líquido, permitindo determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM), com maior sensibilidade e precisão (OSTROSKY et al., 2008; BONA et al., 2014). Essa técnica possibilita testar várias concentrações simultaneamente, sendo útil na avaliação de compostos naturais (BALOUÍRI et al., 2016; PEREIRA et al., 2022).

Os estudos também descrevem o uso de materiais como meios de cultura, placas, discos, microplacas e incubadoras, essenciais para padronização dos testes

(CUTRIM et al., 2019). Após a incubação, os resultados são avaliados pela presença de halos ou crescimento microbiano, permitindo comparar a eficácia dos métodos (OSTROSKY et al., 2008; BALOUÍRI et al., 2016).

Por fim, a análise comparativa dos dados considerou aspectos como sensibilidade, facilidade de execução e capacidade de quantificação, evidenciando vantagens e limitações de cada técnica na avaliação da atividade antimicrobiana (BONA et al., 2014; PEREIRA et al., 2022).

REVISÃO DE LITERATURA

A investigação da atividade antimicrobiana de compostos naturais têm recebido grande atenção da comunidade científica, principalmente em decorrência do aumento da resistência microbiana aos antimicrobianos convencionais, o que representa um desafio significativo para a saúde pública. Nesse contexto, substâncias de origem natural, especialmente aquelas derivadas de plantas medicinais, têm sido amplamente estudadas devido ao seu potencial terapêutico e à presença de compostos bioativos capazes de atuar contra diferentes microrganismos (Alves et al., 2019).

Os compostos naturais apresentam diversos mecanismos de ação, podendo interferir diretamente na estrutura e no funcionamento das células microbianas. Entre esses mecanismos, destacam-se a alteração da permeabilidade da membrana celular, a inibição de enzimas essenciais ao metabolismo e a interferência na síntese de proteínas e ácidos nucleicos, comprometendo o crescimento e a sobrevivência dos microrganismos (Amparo et al., 2018). Dessa forma, esses compostos tornam-se alternativas promissoras no desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos.

Estudos experimentais demonstram que extratos vegetais apresentam atividade significativa contra bactérias de interesse clínico, evidenciando seu potencial no controle de microrganismos patogênicos. Observaram-se a eficácia de extratos de plantas na inibição do crescimento bacteriano, enquanto pesquisas mais recentes indicam que esses compostos também podem atuar como modificadores da resistência bacteriana, potencializando a ação de antibióticos convencionais (Abreu et al., 2012).

Para a avaliação da atividade antimicrobiana, diferentes metodologias laboratoriais são empregadas, sendo o método de difusão em ágar um dos mais utilizados. Essa técnica destaca-se por sua simplicidade, baixo custo e facilidade de execução, sendo amplamente aplicada em análises preliminares. No entanto, apresenta limitações relacionadas à difusão de substâncias no meio sólido, além da influência de fatores como viscosidade dos extratos e características do microrganismo, o que pode interferir na interpretação dos resultados (Cunha, 2016; Gaspar et al., 2017).



Figura 1 – Comparação entre o método de difusão em ágar (disco-difusão) e o método de microdiluição em caldo para avaliação da atividade antimicrobiana.

Fonte: Autores, 2026.

Por outro lado, o método de microdiluição em caldo tem se destacado por permitir uma avaliação mais precisa e quantitativa da atividade antimicrobiana. Essa metodologia possibilita a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), considerada um importante parâmetro para medir a eficácia de compostos antimicrobianos. De acordo com Pereira et al. (2022), esse método apresenta maior sensibilidade e reprodutibilidade, sendo amplamente utilizado em estudos microbiológicos. Além disso, sua padronização contribui para a comparabilidade dos resultados, tornando-o mais confiável em relação a outras técnicas (Balouiri et al., 2016).

Como ilustrado na Figura 1, o método de microdiluição em caldo baseia-se na utilização de placas com múltiplos poços contendo diluições seriadas do antimicrobiano, permitindo a observação do crescimento ou inibição microbiana de forma clara e padronizada. A comparação com o método de difusão em ágar evidencia as vantagens da microdiluição, especialmente na obtenção de resultados quantitativos, como a CIM.

Estudos também demonstram a eficácia de extratos naturais em diferentes aplicações, incluindo o controle microbiológico em alimentos e sistemas biológicos.

Sangaleti et al. (2017) destacam a atividade antibacteriana de extratos vegetais, enquanto Cattelan (2012) evidencia sua aplicação na conservação de alimentos.

CONCLUSÃO

A análise demonstrou que os métodos de difusão em ágar e microdiluição em caldo são importantes na avaliação da atividade antimicrobiana, porém possuem funções diferentes. O método de difusão em ágar se destaca por ser simples, de baixo custo e eficiente para análises iniciais, permitindo identificar o potencial antimicrobiano das substâncias. Entretanto, apresenta limitações relacionadas à difusão dos compostos e a fatores experimentais que podem influenciar os resultados.

Já o método de microdiluição em caldo apresenta maior sensibilidade e precisão, possibilitando a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e uma análise mais detalhada da eficácia dos compostos. Além disso, oferece maior reprodutibilidade e confiabilidade. Dessa forma, os dois métodos são complementares, e seu uso conjunto, aliado à padronização dos procedimentos, garante resultados mais consistentes e completos.

PALAVRAS-CHAVE

Atividade antimicrobiana; Difusão em ágar; Microdiluição em caldo; Extratos vegetais; Concentração inibitória mínima.

AGRADECIMENTOS

Em agradecimento ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio e concessão da bolsa de Iniciação Científica Mirim, fundamental para o desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS

ABREU, A. C.; MCBAIN, A. J.; SIMÕES, M. Plants as sources of new antimicrobials and resistance-modifying agents. *Natural Product Reports*, Cambridge, v. 29, n. 9, p. 1007-1021, 2012.

ALVES, Vanessa Feitosa et al. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais indicadas para uso no Sistema Único de Saúde. *Revista Cubana de Estomatologia*, Havana, v. 56, n. 4, p. 1-16, 2019.

AMPARO, Tatiane Roquete et al. Métodos para avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de plantas medicinais: a necessidade da padronização. *Revista de Geologia*, Fortaleza, v. 30, n. 1, p. 50-59, 2018.

BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, v. 6, n. 2, p. 71-79, 2016.

BONA, Eliana Almeida Mira de et al. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 81, n. 3, p. 218-225, 2014.

BRCAS. Tabela interpretativa de CIM e diâmetros de halo. 2019.

CATTELAN, M. G. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias em alimentos. 2012. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2012.

CUNHA, Raíra da. Metodologias utilizadas em ensaios antimicrobianos de óleos essenciais. 2016. Monografia (Graduação em Química) – Universidade Federal de São João del-Rei, São João del-Rei, 2016.

CUTRIM, E. S. M. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de *Zingiber officinale* (gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (alecrim). *Revista Virtual de Química*, v. 11, n. 1, p. 60-81, 2019.

GASPAR, Emanuelle Baldo et al. Comparação de métodos para a avaliação in vitro de atividade antimicrobiana de extratos vegetais. *Bagé: Embrapa Pecuária Sul*, 2017.

GUIMARÃES, A. C. et al. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais frente a bactérias de interesse clínico. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 19, n. 1, p. 1-8, 2017.

PEREIRA, Maria do Socorro Vieira et al. Estudo sobre métodos utilizados para a determinação da atividade antimicrobiana de extratos de plantas medicinais. *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v. 8, n. 4, p. 26085-26104, 2022.

SA, Lucas dos Santos. Metodologias aplicadas na avaliação da atividade antibacteriana de produtos naturais: uma revisão. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, São Paulo, v. 12, n. 1, 2026.

SANGALETI, T. P. et al. Atividade antibacteriana de extratos aquosos. *Higiene Alimentar*, v. 31, n. 266/267, p. 113-117, 2017.