

## ATIVIDADE ANTIESTAFILOCÓCICA E ESTUDO DA CINÉTICA DE AÇÃO DO EXTRATO DE ARAÇÁ (*Psidium cattleianum* Sabine)

LAÍS ABREU ANASTÁCIO<sup>1</sup>; ANDREIA SALDANHA DE LIMA<sup>2</sup>; DIEGO PERES  
ÁVILA<sup>2</sup>; LUIZ GUSTAVO BACH<sup>2</sup>; TASSIANA RAMIRES<sup>2</sup>; WLADIMIR PADILHA  
DA SILVA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [anastacio.alais@gmail.com](mailto:anastacio.alais@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [andreaia@ufpel.edu.br](mailto:andreaia@ufpel.edu.br); [diiperes1@gmail.com](mailto:diiperes1@gmail.com);  
[lugubach@hotmail.com](mailto:lugubach@hotmail.com); [tassianaramires@gmail.com](mailto:tassianaramires@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [wladimir.padilha2011@gmail.com](mailto:wladimir.padilha2011@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

Doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorrem pela ingestão de alimentos e/ou água contaminados por micro-organismos, parasitas, toxinas ou produtos químicos prejudiciais à saúde (FDA, 2020; EFSA, 2021). Entre as principais bactérias causadoras de DTA destaca-se *Staphylococcus aureus*, um patógeno alimentar importante, devido à combinação de virulência mediada por toxinas e resistência a diversos antimicrobianos (CASTRO PÉREZ et al., 2020; MOLINERI et al., 2021). Entre 2010 e 2019, *S. aureus* aparece como o terceiro principal patógeno envolvido em surtos de DTA no Brasil, sendo responsável por 9,5% dos casos relatados (Brasil, 2020).

A contaminação bacteriana em alimentos é considerada um grave problema de saúde pública (WHO, 2015; MOTA et al., 2021), além de representar um desafio à indústria quanto a conservação e segurança dos produtos (ERICKSON & DOYLE, 2017). Uma forma de controle microbiano tradicionalmente utilizada é a aplicação de conservantes sintéticos, como nitrito e nitrato (FLETCHER, 2014). Entretanto, mudanças no perfil do mercado consumidor aumentaram a busca por alimentos mais sustentáveis (BEDALE et al., 2016; MOTA et al., 2020). Sendo assim, os extratos naturais são uma alternativa aos conservantes sintéticos, devido ao seu potencial de atividade bioconservante (FALLEH et al., 2020; BATIHA et al., 2021).

As plantas sintetizam diversos metabólitos secundários como mecanismos de defesa e muitas dessas moléculas têm sido estudadas, na busca de novas opções de antimicrobianos que possam atender à essa demanda de mercado (DHIFI et al., 2016; FALLEH et al., 2020). Segundo o Ministério do Meio Ambiente (BRASIL, 2021), o Brasil possui uma das maiores biodiversidades do planeta, com fontes inexploradas de frutíferas nativas, ricas em compostos bioativos. O araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) é uma fruta da família *Myrtaceae*, rico em vitamina C, minerais, ácidos graxos, polissacarídeos, compostos voláteis, carotenoides e compostos fenólicos (PEREIRA et al., 2018), no entanto, o potencial antimicrobiano do araçá ainda é pouco explorado. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antiestafilocócia e a cinética de ação antibacteriana do extrato de araçá (EA) contra *S. aureus*.

## 2. METODOLOGIA

Frutos maduros de araçá foram colhidos do banco de acessos da Embrapa Clima Temperado – Pelotas, RS. As frutas foram lavadas, sanitizadas, as sementes removidas e as polpas, com as cascas, congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , até o momento do preparo do extrato. Para o preparo do EA, as amostras foram maceradas com auxílio de um gral com pistilo. Foram usadas 10 g de amostra e 40 mL de álcool etílico P.A. (Synth<sup>®</sup>, Brasil) diluído a 75%. Esse extrato foi submetido à agitação (200 rpm / 2 h), a temperatura ambiente e protegido da luz. Após, permaneceu 15 min em banho ultrassônico (Quimis<sup>®</sup>, Brasil), a 48 A, e foi filtrado em papel filtro qualitativo. O filtrado foi centrifugado a  $6.000 \times g$  por 20 min, e o sobrenadante foi evaporado em rotaevaporador laborota 4000 Heidolph<sup>®</sup> (Schwabach, Alemanha) a  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , até peso constante.

A atividade antiestafilocócica do EA foi avaliada, inicialmente, por teste de disco difusão em ágar e, posteriormente, determinou-se a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM). No teste de difusão em ágar (CLSI, 2018), discos impregnados com 10  $\mu\text{L}$  de EA foram colocados sobre ágar Mueller Hinton (Oxoid, UK), previamente inoculado em placas de Petri com a cepa padrão *S. aureus* ATCC 25923. Para determinação da CIM e da CBM, foi utilizada a técnica de macrodiluição em caldo (CLSI, 2018). A cinética de ação antibacteriana foi realizada de acordo com protocolo descrito por Diao et al. (2014), com pequenas modificações. Após a determinação da CIM e CBM do EA, essas concentrações foram adicionadas a inóculos de *S. aureus* ( $10^5$  UFC.mL<sup>-1</sup>) em caldo BHI (Kasvi<sup>®</sup>, Brasil), os quais foram incubados a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  e 120 rpm por 24 h. No tempo 0 e, após 4, 8, 12 e 24 h, foram feitas diluições seriadas das amostras em água peptonada 0,1%, as quais foram inoculadas em ágar BHI e incubadas a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 24 h. Tubos de ensaio com o inóculo e sem o EA foram usados como controle. Os experimentos foram realizados em triplicata e os dados foram expressos como média ( $\pm$  desvio padrão). Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelo Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O EA apresentou ação antiestafilocócica, com halos de 17 mm de diâmetro no teste de disco difusão em ágar. A CIM foi de 9 mg.mL<sup>-1</sup>, e a CBM de 18 mg.mL<sup>-1</sup>. Medina et al. (2011) avaliaram extratos aquosos e acetônicos de araçá contra *Salmonella* Enteritidis e encontraram atividade antibacteriana, com halos de inibição entre 8,6 e 17 mm e CIM de 5 a 16% da concentração do extrato. Os valores de atividade antimicrobiana encontrados nos diferentes estudos com extratos de vegetais são bastante variáveis e dependem, em grande parte, dos compostos bioativos presentes nesses vegetais, da escolha do solvente e do método de extração empregado (AZMIR et al., 2013; FALLEH et al., 2020).

Os resultados obtidos na análise de cinética de ação antibacteriana estão representados na Figura 1. É possível observar que, já nas primeiras 4 h de contato com o EA, houve redução de pelo menos quatro ciclos logarítmicos na multiplicação de *S. aureus* em relação ao controle. A presença do EA manteve a concentração de *S. aureus* estável, tendo em vista que não houve diferença estatística na contagem do micro-organismo nos tempos 0, 4 e 8 h, quando incubado na presença do EA.

Em relação às duas concentrações de EA utilizadas (CIM e CBM), houve diferença a partir de 8 h de incubação, sendo o micro-organismo completamente inibido em 24 h de incubação com a CBM. Com a utilização da CIM, ainda que *S. aureus* não tenha sido eliminado, a fase lag foi prolongada por 8 h e, após esse tempo, houve redução de 3 log do micro-organismo até as 24 h. Esse resultado é de grande importância, pois nos permite supor que, mesmo que o EA não elimine *S. aureus* em um alimento já contaminado, poderia prolongar a fase lag e evitar a síntese de enterotoxinas, uma vez que isso só ocorre quando o micro-organismo atinge a concentração bacteriana  $\geq 10^5$  UFC.g<sup>-1</sup> de alimento (PINCHUK et al., 2010), mantendo o alimento seguro por mais tempo. A fase lag refere-se ao primeiro estágio da cinética de multiplicação bacteriana. Nesse momento os micro-organismos estão se adaptando ao ambiente e não se multiplicam, apenas aumentam o volume celular (MASOOD et al., 2020).

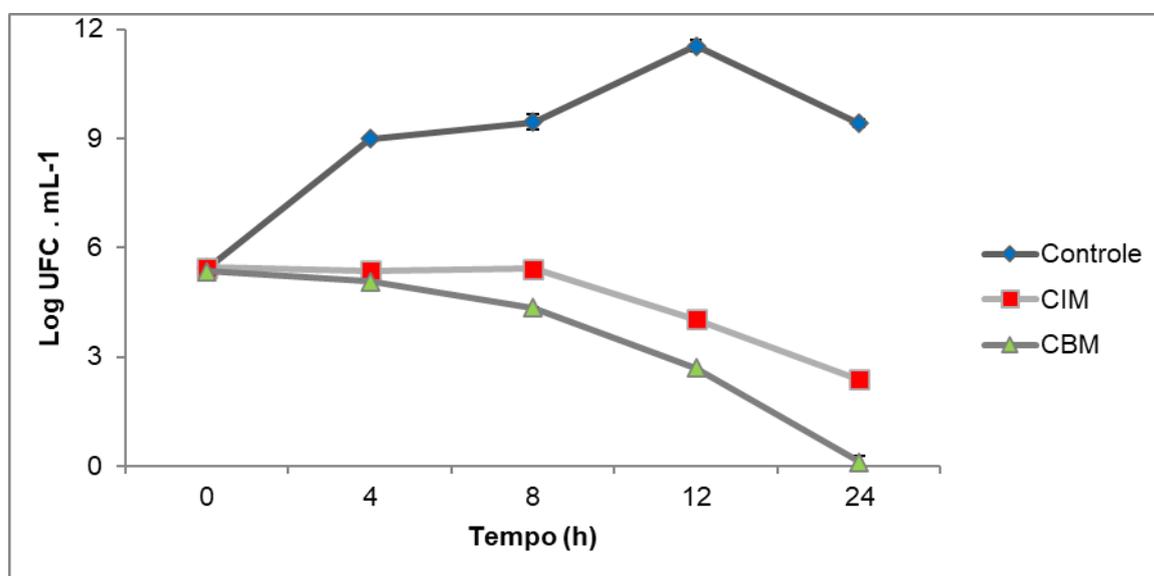


Figura 1: Cinética de ação antibacteriana de extrato de araçá contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; resultados expressos como média (n=3) ± desvio padrão

#### 4. CONCLUSÕES

O extrato de araçá apresenta atividade antiestafilocócica. A avaliação da cinética de ação do EA contra *S. aureus* revelou importantes informações sobre a ação bacteriostática e bactericida contra esse micro-organismo, evidenciando que esse extrato foi capaz de inibir a multiplicação do patógeno, além de antecipar a fase de morte celular, quando em comparação com o controle, sem adição do extrato.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZMIR et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v117, p426-436, 2013.  
BRASIL (2019). Ministério da Saúde. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil**. Acessado em 22 de julho de 2021. Online. Disponível em:

<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/fevereiro/15/Apresenta----o-Surtos-DTA---Fevereiro-2019.pdf>

BATIHA et al. Application of natural antimicrobials in food preservation: Recent views. **Food Control**, v130, p108324, 2021.

BEDALE et al. Dietary nitrate and nitrite: Benefits, risks, and evolving perceptions. **Meat Science**, v120, p85–92, 2016.

DIAO et al. Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). **Food Control**, v35, p109–116, 2014.

DHIFI et al. Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. **Medecines**, v3, p1-16, 2016

CASTRO PÉREZ et al. Relationship between virulence factors and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v22, p792-802, 2020.

EFSA (European Food Safety Authority), 2021. **Food Zoonotic Diseases**. Acessado em 22 de julho de 2021. Online. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/foodborne-zoonotic-diseases>

ERICKSON, M. C., & DOYLE, M. P. The Challenges of Eliminating or Substituting Antimicrobial Preservatives in Foods. **Annual Review of Food Science and Technology**, v8(1), p371–390, 2017.

FALLEH et al. Essential Oils: A Promising Eco-Friendly Food Preservative. **Food Chemistry**, v330, p127268, 2020.

FLETCHER, N. Food Additives: Preservatives. **Encyclopedia of Food Safety**, v2, p471–473, 2014.

FDA (Food and Drug Administration), 2020. **Foodborne Pathogens**. Acessado em 23 de julho de 2021. Online. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/outbreaks-foodborne-illness/foodborne-pathogens>

MASOOD et al. Chapter 30 - Growth of bacterial cultures and preparation of growth curve. **Advanced Methods in Molecular Biology and Biotechnology - A Practical Lab Manual**, v1, p163-166, 2021.

MEDINA et al. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, v128, n4, p916–922, 2011.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2021. **Biodiversidade Brasileira**. Acessado em 23 de julho de 2021. Online. Disponível em: <https://antigo.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira.html>

MOLINERI et al. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis: Systematic review and meta-analysis. **Preventive Veterinary Medicine**, v188, p105261, 2021.

MOTA, et al. Natural-based consumer health nanoproducts: medicines, cosmetics, and food supplements. **Handbook of Functionalized Nanomaterials for Industrial Applications**, p527–578, 2020.

PEREIRA et al. *Psidium cattleianum* fruits: A review on its composition and bioactivity. **Food Chemistry**, v258, p95–103, 2018.

PINCHUK et al. Staphylococcal Enterotoxins. **Toxins**, v2(8), p2177–2197, 2010.

WHO (World Health Organization). **Who estimates of the global burden of foodborne diseases**, 2015. Acessado em 23 de julho de 2021. Disponível em: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165\\_eng.pdf](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165_eng.pdf)