

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE SETE ÓLEOS ESSENCIAIS CONTRA *Listeria monocytogenes* ISOLADAS DE SUSHI

GABRIELE BENATTO DELGADO¹; PÂMELA INCHAUSPE CORREA ALVES;
ADRIANA FÃO CARLOTO; TASSIANA RAMIRES; GRACIELA VOLZ LOPES²;
WLADIMIR PADILHA DA SILVA³

¹Universidade Federal de Pelotas – gabrielle_delgado@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – pam.inchauspe@hotmail.com; adrianafcarloto@hotmail.com;
tassianaramires@gmail.com; gracielaavlopes@yahoo.com.br

³Universidade Federal de Pelotas – wladimir.padilha2011@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Listeria monocytogenes é uma bactéria Gram-positiva, ubíqua, amplamente distribuída no ambiente, capaz de persistir por até dez anos em uma linha de processamento de alimentos (Galia et al., 2018). Possui capacidade de multiplicação em ampla faixa de temperatura, inclusive sob refrigeração, tornando-se um problema na indústria alimentícia. Esse patógeno pode estar presente em alimentos mal cozidos ou prontos para o consumo, do inglês *ready-to-eat* (RTE), como é o caso do sushi. O pescado, normalmente é submetido a processamentos térmicos antes do seu consumo, o que aumenta sua segurança do ponto de vista microbiológico, no entanto, em alimentos RTE esse tratamento não é realizado, tornando-os potenciais veículos de doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA) (Miguéis et al., 2016). A alta procura por alimentos RTE amplia também o cuidado com o seu consumo, afetando a incidência de doenças causadas por bactérias psicotróficas, como é o caso de *L. monocytogenes* (Iseppi et al., 2020). Vale ressaltar que a ingestão de alimentos contaminados por *L. monocytogenes* é capaz de causar listeriose, uma grave infecção de origem alimentar, frequentemente associada a alimentos RTE e muitas vezes fatal em grupos de risco, tais como gestantes, idosos, crianças e pessoas imunocomprometidas (Ramires et al., 2021).

A resistência de diferentes bactérias patogênicas a antimicrobianos de uso clínico é uma preocupação mundial atual (CDC, 2022), se tornando essencial a pesquisa por novos agentes antimicrobianos. Nesse contexto, os óleos essenciais (OE) extraídos de plantas se mostram promissores, tendo em vista que já tem sido avaliados quanto a sua atividade antibacteriana, antifúngica, antiviral e antioxidante (Fratini et al., 2019). Além disso, em decorrência de seu potencial como conservantes, os OE são considerados ingredientes promissores na indústria de alimentos, aliado ao seu apelo como método de preservação natural (Szczepanski & Lipski 2014; Iseppi et al., 2020). Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antibacteriana de sete óleos essenciais (*Salvia officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Syzygium aromaticum*, *Melaleuca altemifolia*, *Schinus terebinthifolia*, *Salvia Rosmarinus* e *Curcuma*) contra isolados de *L. monocytogenes*, provenientes de sushis.

2. METODOLOGIA

Foram avaliados seis isolados de *L. monocytogenes* (identificados como L1, L10, L11, L16, L17 e L20), previamente caracterizados (Ramires et al., 2021),

provenientes de sushis comercializados em estabelecimentos especializados na culinária japonesa, da cidade de Pelotas, RS. Posteriormente, foram avaliadas a ação de sete óleos essenciais (*Salvia officinalis*- sálvia, *Thymus vulgaris*- tomilho branco, *Syzygium aromaticum*- cravo, *Melaleuca altemifolia*- melaleuca, *Schinus terebinthifolia*- pimenta rosa, *Salvia rosmarinus*- alecrim e *Curcuma longa*-cúrcuma) contra a esses isolados, através da técnica de disco-difusão em ágar (DD). Foram realizadas diluições em solução salina para a obtenção da concentração 0,5 da escala de McFarland (aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC.mL⁻¹). A suspensão bacteriana foi semeada, com auxílio de swabs esterilizados, em placas de Petri contendo ágar Mueller Hinton (MH) e, posteriormente, foram adicionados 10 µL de cada óleo essencial no centro da placa de Petri. A suscetibilidade dos isolados aos óleos essenciais foi mensurada em função do tamanho do halo de inibição formado, medido em milímetros. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h e, após, foi realizada a leitura dos resultados. Por fim, foi avaliada a concentração inibitória mínima (CIM) do OE que apresentou melhor potencial antibacteriano na DD. A CIM foi realizada através do teste de microdiluição em placa, de acordo com protocolo proposto pelo *Manual Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI* (2018). A CIM dos OEs foi considerada como a menor concentração capaz de inibir a multiplicação bacteriana.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo observou-se que os isolados de *L. monocytogenes* apresentaram suscetibilidade a pelo menos três OE avaliados, com exceção do isolado L16, que não foi suscetível, como evidenciado na Tabela 1.

Tabela 1. Perfil de suscetibilidade de seis isolados de *Listeria monocytogenes* provenientes de sushis, a sete óleos essenciais comerciais

| Isolados | Halo de inibição (mm) | | | | | | |
|----------|-----------------------|-------|---------|-----------|---------|---------|--------------|
| | Sálvia | Cravo | Tomilho | Melaleuca | Alecrim | Cúrcuma | Pimenta Rosa |
| L1 | 17 | 10 | 30 | - | - | - | - |
| L10 | 18 | 11 | 30 | - | - | - | - |
| L11 | 15 | - | - | 16 | - | 10 | - |
| L16 | - | - | - | - | - | - | - |
| L17 | 14 | 20 | - | - | - | - | 13 |
| L20 | 14 | 21 | - | 13 | - | 10 | 18 |

-: sem halo de inibição.

Como pode ser observado na Tabela 1, apesar do OE de tomilho ter apresentado os maiores halos de inibição contra os isolados L1 e L10, não apresentou atividade antibacteriana contra os demais isolados. O OE de sálvia demonstrou o maior potencial antibacteriano dentre os OE testados, tendo em vista que cinco (83,3%) isolados apresentaram suscetibilidade, por isso, optou-se por realizar a CIM desse OE. Segundo Rota et al. (2008), a atividade antimicrobiana de um OE pode ser classificada como fortemente inibitória quando as zonas de inibição são > 20 mm; moderadamente inibitória, entre 12 e 20 mm; e nenhum efeito inibitório quando as zonas inibitórias são < 12 mm. Dessa forma, neste estudo, o OE de sálvia demonstrou atividade moderadamente inibitória,

apresentando halos entre 14 e 18 mm. ISEPPI et al. (2020), avaliaram a eficácia de OE de tomilho e de sálvia contra 12 cepas de *L. monocytogenes* e verificaram que ambos demonstraram atividade contra 100% das cepas testadas, com a sálvia apresentando halos de inibição variando entre 1 e 5 mm. Entretanto, os resultados da CIM mostraram que a concentração do OE de sálvia necessária para impedir a multiplicação bacteriana foi maior que as concentrações do OE de tomilho. No presente estudo, a CIM do OE de sálvia foi de 10,6 mg.mL⁻¹ (12,5%) para todos os isolados.

ASSAGGAF et al. (2022) avaliaram o OE de sálvia contra *L. monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* e *Salmonella Typhimurium*, e verificaram que o OE apresentou maior atividade antimicrobiana contra *L. monocytogenes*, com CIM variando entre 0,12 e 0,25%, valores inferiores aos obtidos no presente estudo (12,5%), portanto, necessitando de menores concentrações do OE para inibição da multiplicação bacteriana. Já ED-DRA et al. (2020), também testaram OE de sálvia contra *L. monocytogenes* e encontraram halos de inibição entre 10,2 e 17,5 mm, valores semelhantes aos deste estudo (14 a 18 mm), porém, CIM de 1%.

No presente estudo, o segundo OE mais eficaz contra *L. monocytogenes* foi o de cravo-da-índia, apresentando halos de inibição que variaram entre 10 e 21 mm, em quatro dos isolados testados. RADÜNZ et al. (2019), testaram a atividade antimicrobiana de OE de cravo-da-índia contra *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes* e *S. Typhimurium*. As zonas de inibição apresentadas foram de 28 mm, 28 mm, 24 mm e 22 mm para *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes* e *S. Typhimurium*, respectivamente.

4. CONCLUSÕES

Entre os sete óleos essenciais testados, o OE da sálvia apresentou a maior atividade antilisteria. Esse é um resultado promissor, demonstrando que esse OE tem potencial para ser utilizado como uma alternativa natural para o controle desse importante patógeno de origem alimentar.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSAGGAF, Hamza M. et al. Chemical analysis and investigation of biological effects of *Salvia officinalis* essential oils at three phenological stages. **Molecules**, v. 27, n. 16, p. 5157, 2022.
- ED-DRA, Abdelaziz et al. Chemical composition, antioxidant capacity and antibacterial action of five Moroccan essential oils against *Listeria monocytogenes* and different serotypes of *Salmonella enterica*. **Microbial Pathogenesis**, v. 149, p. 104510, 2020.
- FRATINI, Filippo et al. Antimicrobial activity of three essential oils (cinnamon, manuka, and winter savory), and their synergic interaction, against *Listeria monocytogenes*. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 34, n. 5, p. 339-348, 2019.
- GALIA, S.; Garcia-Gutiérrez, C.; Miguelez, EM; Vilar, CJ; Lombo, F. Biofilmes na indústria alimentar: Aspectos sanitários e métodos de controlo. **Frente. Microbiol.** 2018, 9, 898
- ISEPPI, Ramona et al. Combined antimicrobial use of essential oils and bacteriocin bacLP17 as seafood biopreservative to control *Listeria monocytogenes* both in planktonic and in sessile forms. **Research in Microbiology**, v. 171, n. 8, p. 351-356, 2020.

- MIGUÉIS, S., A. T. Moura, C. Saraiva, and A. Esteves. 2016. "Influence of Season and Type of Restaurants on Sashimi Microbiota." **European Journal of Public Health** 26(5):877–81. doi: 10.1093/eurpub/ckw009.
- PILCHOVÁ T, Hernould M, Prévost H, Demnerová K, Pazlarová J, Tresse O. (2014). "Influência dos ambientes de processamento de alimentos na iniciação da estrutura do biofilme estático de *Listeria monocytogenes*". **Controle Alimentar** 35(1): 366–372.
- RAMIRES, Tassiana et al. Genetic diversity, biofilm and virulence characteristics of *Listeria monocytogenes* in salmon sushi. **Food Research International**, v. 140, p. 109871, 2021.
- RADÜNZ, Marjana et al. Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum*, L.) essential oil. **Food chemistry**, v. 276, p. 180-186, 2019.
- SZCZEPANSKI, Sandra; LIPSKI, André. Essential oils show specific inhibiting effects on bacterial biofilm formation. **Food Control**, v. 36, n. 1, p. 224-229, 2014.
- TODD, Ewen C. D., Judy D. Greig, Charles A. Bartleson, and Barry S. Michaels. 2007. "Outbreaks Where Food Workers Have Been Implicated in the Spread of Foodborne Disease. Part 3. Factors Contributing to Outbreaks and Description of Outbreak Categories." **Journal of Food Protection** 70(9):2199–2217. doi: 10.4315/0362-028X-70.9.2199.