

POTENCIAL ANTIBACTERIANO DO ARAÇÁ VERMELHO (*Psidium cattleianum* L.)

ELISA DOS SANTOS PEREIRA¹; TAIANE MOTA CAMARGO¹; MARJANA RADUNZ¹; PÂMELA INCHAUSPE CORRÊA ALVES¹; MARCIA VIZZOTTO²; ELIEZER ÁVILA GANDRA³

¹Universidade Federal de Pelotas – lisaspereira@gmail.com

²Embrapa Clima Temperado – marcia.vizzotto@embrapa.com

³Universidade Federal de Pelotas – gandraea@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por alimentos (DTA) são uma importante causa de morbidade e mortalidade em todo o mundo, constituindo um problema de saúde pública e afetando o desenvolvimento econômico dos países (WHO, 2015).

A indústria de alimentos tem usado uma variedade de agentes antimicrobianos sintéticos para inibir o desenvolvimento de micro-organismos patogênicos, porém seu uso tem sido associado em alguns casos como causa de alergias respiratórias, carcinogenicidade, teratogenicidade e toxicidade (GUTIERREZ; BARRY-RYAN; BOURKE, 2009; BAJPAI; BAEK; KANG, 2012). Deste modo, nos últimos anos diversas pesquisas vêm sendo realizadas com o intuito de obter compostos antimicrobianos naturais (DUARTE, 2006).

O araçá (*Psidium cattleianum* L.) é uma fruta nativa do Brasil pertencente à família Myrtaceae, e é originária do sul do Brasil. Espécies nativas, como o araçá, possuem potencial para serem utilizadas tanto no consumo *in natura*, quanto para a agroindústria, na forma de doces, geleias e sucos, ou ainda, pela indústria farmacêutica devido à riqueza em vitaminas, substâncias antioxidantes, agentes antiproliferativos e antimicrobianos presentes (FRANZON et al., 2009; MEDINA et al., 2011).

A atividade antimicrobiana de plantas pode estar relacionada com a presença de compostos polifenólicos, que estão presentes em folhas e frutos (RUBILAR et al., 2011). No araçá, por exemplo, estão presentes flavonoides, como o kaempferol, queracetina e cianidina, que são reconhecidos pela atividade antibacteriana (MEDINA et al., 2011).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antibacteriano de extratos de araçá vermelho contra as bactérias *L. monocytogenes*, *E. coli* e a *S. aureus*.

2. METODOLOGIA

Os araçás vermelhos (Acesso 87) são provenientes do Banco Ativo de Germoplasma de Frutas Nativas da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. Os frutos foram colhidos na safra de 2016-2017, armazenados em freezer (-20°C) e posteriormente liofilizados para obtenção da amostra em pó. Para avaliar o potencial antimicrobiano do araçá vermelho, foram utilizados extratos metanólicos conforme metodologia de extração de SCHERER e GODOY (2014). A concentração final das amostras foi de 1g/mL.

Foram testados os efeitos antimicrobianos do extrato de araçá vermelho sobre as cepas padrão das espécies de bactérias *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 43895), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 10832). Para isso uma alçada dessas bactérias foi transferida para caldo Soja Tripticaseína (TSB) e incubadas em estufa durante 24 h a 37°C. Após, uma

alçada deste crescimento foi estriada em placas de Petri com meios seletivos, sendo ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) para *E. coli*, ágar Oxford para *L. monocytogenes* e ágar Baird-Parker para *S. aureus*, e incubadas por 24h/48h a 37°C, para o isolamento das colônias com morfologia característica.

A partir do crescimento bacteriano nas placas de Petri, foi extraída uma alçada e ressuspensa em solução salina (NaCl 0,85%), a qual foi padronizada na concentração 0,5 na escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹). Todos os ensaios foram realizados em triplicatas.

Análise de disco difusão: foi realizada de acordo com protocolo proposto pelo Manual *Clinical and Laboratory Standards Institute* – CLSI (CLSI, 2015a) com pequenas modificações. A solução salina contendo o inóculo foi semeada na superfície de placas com ágar Muller-Hinton. Em seguida foram adicionados discos de papel filtro esterilizados na placa e o extrato de açaí vermelho foi impregnado sobre os discos de papel. As placas foram incubadas por 24 h a 37 °C. Após este período foi efetuada a medição dos halos de inibição, sendo os resultados expressos em centímetros.

Concentração inibitória mínima (CIM): realizada de acordo com pelo Manual *Clinical and Laboratory Standards Institute* – CLSI (CLSI, 2015b) com pequenas modificações. Foram utilizadas placas de microtitulação de 96 poços, onde foram acrescentadas em cada poço 100 µL de caldo BHI, 100 µL de inóculo (80 µL de caldo BHI e 20 µL de água salina com crescimento bacteriano) e o extrato de extrato de açaí vermelho em três diferentes concentrações de amostra pura (100 µL extrato de açaí vermelho puro); 1:100 (1 µL de extrato de açaí vermelho e 99 µL de DMSO) e 1:1000 (0,1 µL de extrato de açaí vermelho e 99,9 µL de DMSO). As microplacas foram avaliadas em espectrofômetro a 620 nm. Em seguida, procedeu-se a incubação por 24 h a 37 °C, e após, foi realizada nova leitura em espectrofotômetro. A CIM foi considerada como a menor concentração em que não houve crescimento bacteriano no meio de cultura.

Concentração bactericida mínima (CBM): foi realizada de acordo com o método descrito por Cabral et al. (2009) com pequenas modificações. Após a realização da CIM, foram retirados 15 µL dos poços das amostras que tiveram inibição e estriados em placas de Petri com ágar BHA (Brain Heart Infusion Agar) e incubados por 24 h a 37 °C. Foi considerada a mínima concentração bactericida as placas onde não houve crescimento bacteriano.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presença e o tamanho dos halos de inibição indicam a suscetibilidade das bactérias frente a uma amostra; halos menores que 0,7 cm são considerados não ativos frente à bactéria enquanto superiores a 1,2 cm apresentam efeito inibitório satisfatório (ARORA & KAUR, 1999).

O extrato de açaí vermelho foi considerado ativo, pois apresentou inibição do crescimento das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes* (Tabela 1) com halos de inibição com médias de 9,1 mm e de 7,4 mm, respectivamente.

Tabela 1. Halos de inibição obtidos pelo método de disco difusão por aplicação de extrato de araçá frente às bactérias *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Bactérias	Halo de inibição* (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	9,1±0,06
<i>Escherichia coli</i>	0,0±0,00
<i>Listeria monocytogenes</i>	7,4±0,04

*Média das triplicatas

A bactéria que foi mais sensível ao extrato segundo o halo de inibição, foi *S. aureus*. Esta bactéria é responsável por casos e surtos de intoxicação alimentar pelo consumo de enterotoxinas pré-formadas em alimentos é também responsável pela síndrome de choque tóxico, além de ser uma das principais causas de infecção hospitalar, associado ao aumento das taxas de mortalidade e maior permanência hospitalar (KRAKER et al., 2011).

O extrato de araçá vermelho apresentou atividade antimicrobiana moderada para todas as bactérias (CIM 330 $\mu\text{g mL}^{-1}$), porém este extrato teve atividade bactericida apenas para *S. aureus* e *L. monocytogenes* (Tabela 2).

Tabela 2. Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) do extrato de araçá frente às bactérias *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Bactérias	Concentração* ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	
	CIM	CBM
<i>Staphylococcus aureus</i>	330	-
<i>Escherichia coli</i>	330	+
<i>Listeria monocytogenes</i>	330	-

*Concentração diluída com dimetilsulfóxido; + Crescimento do microrganismo; - Não crescimento do microrganismo.

De acordo com HOLETZ et al. (2002), extratos com valores de MIC inferior a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, possuem boa atividade antimicrobiana; de 100 a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$, a atividade é considerada moderada; de 500 a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, é considerada fraca e mais de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, o extrato é considerado inativo.

Semelhantes aos resultados deste trabalho, HOLETZ et al., (2002) verificaram que extratos de *Psidium guajava* apresentaram atividade moderada contra *S. aureus* (MIC = 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *E. coli* (MIC = 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

Na literatura são encontrados diversos trabalhos com extrato ou folha de araçá frente a outras bactérias. SCUR et al., (2016) verificaram atividade antimicrobiana moderada do extrato de araçá contra *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus epidermidis*, enquanto FALEIRO et al., (2016) encontraram atividade para *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* e *Burkholderia cepacia*.

Pesquisas como estas são importantes para conhecimento à cerca dos benefícios de frutas nativas, como o araçá vermelho e tem grande relevância considerando o caráter patogênico das bactérias avaliadas.

4. CONCLUSÕES

Extrato de araçá vermelho possui atividade antimicrobiana moderada frente as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARORA, D.S.; KAUR, J. Antimicrobial activity of spices. **International Journal of Antimicrobials Agents**, v. 12, p. 257-262, 1999.
- BAJPAI, V. K.; BAEK, K. H.; KANG, S. C. Control of *Salmonella* in foods by using essential oils: A review. **Food Research International**, v. 45, p. 722-734, 2012.
- CLSI, 2015a. M02-A12: Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Twelfth Edition. CLSI (Clinical Lab. Stand. Institute) 35.
- CLSI, 2015b. M07-A10: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition. CLSI (Clinical Lab. Stand. Institute) 35.
- DUARTE, Marta Cristina Teixeira. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Revista MultiCiência**, v. 7, n. 1, 2006.
- FRANZON, R. C.; CAMPOS, L. D. O.; PROENÇA, C. E. B.; SOUSA-SILVA, J. C. Araçás do Gênero *Psidium*: principais espécies, ocorrência, descrição e usos. Embrapa Cerrados, 2009.
- GUTIERREZ, J.; BARRY-RYAN, C.; BOURKE, P. Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: Efficacy, synergistic potential and interactions with food components. **Food Microbiology**, v. 26, p. 142-150, 2009.
- HOLETZ, F. B., PESSINI, G. L., SANCHES, N. R., CORTEZ, D. A. G., NAKAMURA, C. V., & DIAS FILHO, B. P. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.
- KRAKER, M. E.; DAVEY, P. G.; GRUNDMANN, H.; BURDEN. Mortality and hospital stay associated with resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteremia: estimating the burden of antibiotic resistance in Europe. **PLoS medicine**, v. 8, n. 10, p. e1001104, 2011.
- MEDINA, A. L.; HAAS, L. I. R.; CHAVES, F. C.; SALVADOR, M.; ZAMBIAZI, R. C.; DA SILVA, W. P.; NORA, L.; ROMBALDI, C. V. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, v. 128, n. 4, p. 916-922, 2011.
- SCHERER, R.; GODOY, H.T. Effects of extraction methods of phenolic compounds from *Xanthium strumarium* L. and their antioxidant activity. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.16, n.1, p. 41-46, 2014.
- WHO. (2015). WHO estimates of the global burden of foodborne diseases. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/199350/1/9789241565165_eng.pdf /.
- Acesso em 09/10/2017.