

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE EPIGALLOCATECNA-3-GALLATO EM BACTÉRIAS DE IMPOTÂNCIA EM ALIMENTOS

Gabriela de Souza Vanzelli (PIC/UEM), Nicole Lohana de Souza (Mestranda), João Vitor de Oliveira Silva (Doutorando), Laura, Beatriz Marques Martins (PIC/UEM), Jane Martha Graton Mikcha (Co-orientador), Paula Aline Zanetti Campanerut-Sá (Orientador), e-mail: ra122233@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina/Maringá, PR.

**Área:** Ciência de Alimentos; **Sub-área:** Microbiologia de Alimentos

**Palavras-chave:** Epigallocatecna-3-gallato, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus*.

### Resumo:

Tendo em vista o grande problema que as doenças transmitidas por alimentos representam para a saúde pública e para a economia, realizar estudos que busquem trazer soluções para esses problemas, se veem cada vez mais necessárias. Desse modo, esse estudo avaliou a atividade antibacteriana de epigallocatecna-3-gallato em bactérias de importância em alimentos. A concentração inibitória mínima de epigallocatecna-3-gallato foi determinada pela microdiluição e obteve-se 62,5 µg/ml para *S. aureus* e maior que 1000 µg/ml para *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium, *Enterococcus faecalis* e *Bacillus cereus*. A concentração bactericida mínima de epigallocatequina-3-galato foi de 500 µg/ml para *S. aureus* e maior que 1000 µg/ml para as outras bactérias. No ensaio de curva de morte foi possível observar que, as concentrações 31,25; 62,5; 125 e 250 µg/ml de epigallocatequina-3-galato quando em contato com *S. aureus* por até 24 horas não foram capazes de reduzir significativamente a população desse microrganismo.

## Introdução

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) geram grandes perdas econômicas para a indústria de alimentos. Para minimizar essa problemática, as indústrias de alimentos utilizam compostos sintéticos como conservantes, porém estes conservantes têm potencial tóxico e podem causar danos à saúde e impactos ao meio ambiente. Diante disso, os consumidores vêm optando por um estilo de vida mais saudável, preferindo alimentos seguros, minimamente processados e isentos de conservantes sintéticos. Tais preocupações estimulam o interesse em conservantes naturais que possam ser utilizados pelo setor agroalimentar em vez de aditivos sintéticos. Os extratos vegetais têm sido considerados uma boa alternativa de conservante alimentar devido as suas atividades biológicas. Nesse sentido, este trabalho avaliou a atividade antibacteriana de epigallocatecna-3-gallato em *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Bacillus cereus*.

## Materiais e Métodos

Foram utilizadas *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* sorotipo Typhimurium ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 51299, *Bacillus cereus* ATCC 11778, previamente armazenadas em Brain and Heart Infusion (BHI, Difco, Le Pont de Claix, França) com 20% de glicerol (v/v) a – 20% no Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Departamento de Análise Clínicas e Biomedicina - UEM.

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) da Epigallocatecna-3-gallato foi determinada de acordo com o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015), utilizando o método de microdiluição em caldo. As suspensões bacterianas foram padronizadas em solução salina 0,85% usando a escala de McFarland 0,5, diluídas 1:20 e então, inoculadas 10 µL em cada orifício da microplaca contendo diluições seriadas de epigallocatequina-3-galato variando de 1,95 a 1000 µg/mL. As

microplacas foram incubadas a 35 °C durante 24 horas. Foi realizada leitura visual e a CIM foi definida como a menor concentração do composto necessária para inibir o crescimento bacteriano.

Para a determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM), uma alíquota de 10 µl de cada poço, sem crescimento da microplaca da CIM, foi transferido para meio de cultura e incubado conforme a especificidade de cada bactéria. A CBM foi determinada como a menor concentração onde não for observado crescimento bacteriano. O experimento foi realizado em duplicata e os resultados confirmados por três experimentos.

No ensaio de curva do tempo de morte as bactérias foram tratadas com Epigallocatecna-3-gallato em diferentes concentrações previamente estabelecidas pela determinação da CIM e CBM. Nos intervalos de tempo predeterminados (0, 1, 2, 4, 8, 12 e 24h), 100 µl de cada suspensão foram diluídos de forma seriada em salina estéril e semeados em placas de MHA para a contagem de colônias. As placas foram incubadas a 37°C por 18 a 24 h e o resultado foi expresso num gráfico de log CFU/ml x h para cada tempo avaliado.

## Resultados e Discussão

Primeiramente foi avaliado a ação da Epigallocatecna-3-gallato contra *E. coli*, *S. Typhimurium*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *B. cereus* (Tabela 1). A CIM de Epigallocatecna-3-gallato foi de 62,5 µg/ml para *S. aureus* e maior que 1000 µg/ml para *E. coli*, *S. Typhimurium*, *E. faecalis* e *B. cereus*. A CBM de epigallocatequina-3-galato foi de 500 µg/ml para *S. aureus* e maior que 1000 µg/ml para as outras bactérias.

**Tabela 1:** Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM) de epigallocatecna-3-gallato.

	<i>Epigallocatecna-3-gallato</i>	
	CIM (µg/ml)	CBM (µg/ml)

<i>Escherichia coli</i>	> 1000	> 1000
<i>Salmonella Typhimurium</i>	> 1000	> 1000
<i>Staphylococcus aureus</i>	62,5	500
<i>Bacillus cereus</i>	> 1000	> 1000
<i>Enterococcus faecalis</i>	> 1000	> 1000

A partir dos dados de CIM e CBM, foi realizado o ensaio de curva do tempo de morte apenas para *S. aureus* (Figura 1). Neste ensaio foi possível observar que, as concentrações 31,25 (1/2CIM), 62,5 (CIM), 125 (2xCIM) e 250 µg/ml (4xCIM) de epigalocatequina-3-galato quando em contato com *S. aureus* por até 24 horas não foram capazes de reduzir significativamente a população desse microrganismo. Considerando a pequena redução da população microbiana observada com o tratamento de 250 µg/ml por 24 horas, sugere-se que um aumento na concentração e tempo de tratamento poderiam melhorar a redução do crescimento microbiano.

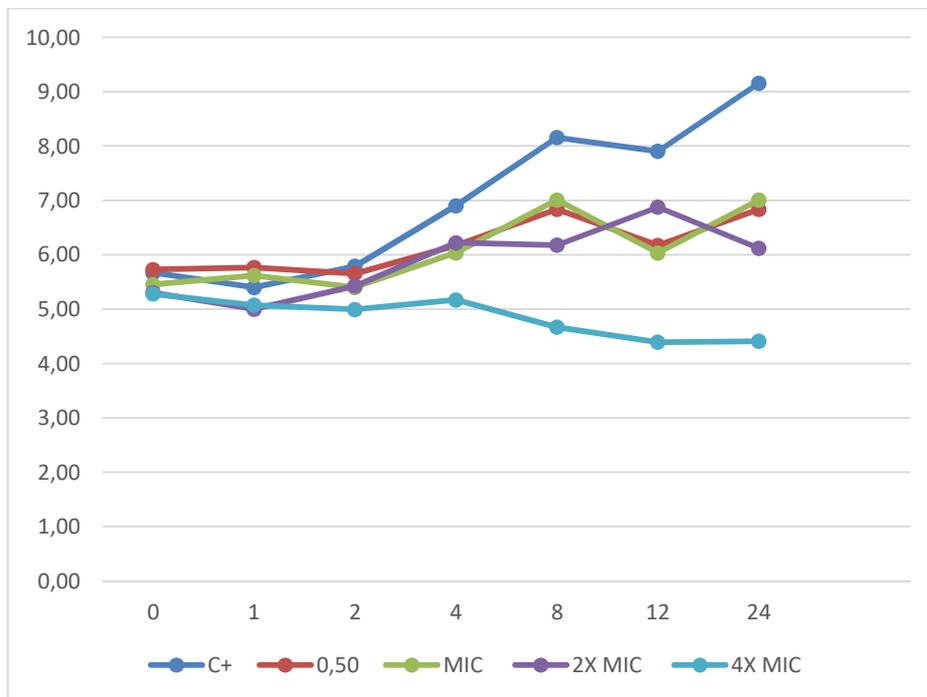


Figura 1: Curva de morte de *Staphylococcus aureus* tratado com epigalocatequina-3-galato.

## Conclusões

Neste estudo foi demonstrado que a epigalocatequina-3-galato possui atividade antibacteriana contra *S. aureus* porém, não foi possível observar redução significativa nas concentrações e tempos avaliados pela curva de morte.

## Referências

CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard – Tenth Edition. CLSI document M07-A10. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.

DE MELLO, João Palazzo; PETEREIT, Frank; NAHRSTEDT, Adolf. Prorobinetinidins from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry*, v. 42, n. 3, p. 857-862, 1996.

PISOSCHI, Aurelia Magdalena et al. An overview of natural antimicrobials role in food. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 143, p. 922-935, 2018.

RIEL, Greta et al. Effects of parsley extract powder as an alternative for the direct addition of sodium nitrite in the production of mortadella-type sausages–Impact on microbiological, physicochemical and sensory aspects. *Meat science*, v. 131, p. 166-175, 2017.