



COINTER PDVAgro 2023

VIII CONGRESSO INTERNACIONAL DAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Edição Presencial Recife (PE) | 29, 30 de nov a 1 de dez

ISSN: 2526-7701 | PREFIXO DOI: 10.31692/2526-7701

ACÇÃO ANTAGONISTA DE FUNGOS FILAMENTOSOS E EXTRATOS VEGETAIS SOBRE BACTÉRIAS PATOGENICAS: ESTUDO *IN VITRO*

ACCIÓN ANTAGONISTA DE HONGOS FILAMENTOS Y EXTRACTOS DE PLANTAS SOBRE BACTERIAS PATÓGENAS: ESTUDIO *IN VITRO*

ANTAGONIST ACTION OF FILAMENTOUS FUNGI AND PLANT EXTRACTS ON PATHOGENIC BACTERIA: *IN VITRO* STUDY

Apresentação: Pôster

Juan Carlos da Silva Nascimento¹; Edneide Tavares dos Santos²; Larissa Mylena Mendes Dias³; Thamires dos Anjos Lopes⁴; Marilene da Silva Lima⁵

INTRODUÇÃO

Os antimicrobianos têm como função, a capacidade de inibir o crescimento de microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes como bactérias e fungos, e podem ser derivados de origem microbiana, vegetal e animal (BARROS et al., 2020). Esses compostos têm capacidade de interagir com moléculas alvo e interferirem nas funções das células de microrganismos com mecanismos antimicrobianos principalmente gerando modificações nas propriedades da membrana citoplasmática e no metabolismo energético além de inibirem a síntese de ácido nucleico (BARBOSA et al., 2015). Tratando-se de antimicrobianos de origem microbiana, as bacteriocinas recebem notoriedade, e basicamente são peptídeos com atividade antimicrobiana utilizados como conservantes alimentares naturais (CLEVELAND et al., 2001). Importante investigar o potencial de culturas fúngicas e vegetais que apresentem propriedades antimicrobianas. Diante do exposto, o objetivo desse trabalho é avaliar o potencial antimicrobiano de extratos brutos, elaborados a partir de plantas e de fermentação fúngica.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Os fungos filamentosos são microrganismos comumente encontrados nos mais diversos tipos de ambiente, sendo capazes de realizar fermentação, processo envolvendo reações químicas catalisadas por enzimas no qual a matéria orgânica presente no inóculo é convertida

¹ Eng. de Alimentos, Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, juancarlos.ufrpe@gmail.com

² Eng. de Alimentos, Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, nutriedneidetavares1@gmail.com

³ Eng. de Alimentos, Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, larissammdias0@gmail.com

⁴ Eng. de Alimentos, Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, thamiresanjos616@gmail.com

⁵ Doutora, Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, marilene.lima@ufape.edu.br

em várias substâncias (SOUZA et al., 2006). Os antibióticos são metabólitos secundários sintetizados a partir de fungos e/ou bactérias, caracterizados por possuírem a capacidade de inibir ou causar a morte de bactérias ou fungos (SOUZA et al., 2006). Eles são provenientes de metabolismo celular, embora possam ser sintetizados quimicamente. Os antibióticos sintéticos são substâncias sintetizadas em laboratórios ou de origem vegetal que apresentam baixa toxicidade para as células normais do hospedeiro e alta toxicidade para o agente agressor. (GUIMARÃES, 2009).

METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no Laboratório de Microbiologia do CENLAG da Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE), Garanhuns - PE. As amostras vegetais de Uxi-Amarelo (*Endopleura uchi*), Cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*), Manjericão (*Ocimum basilicum*), Orégano (*Origanum vulgare*), LOURO- LOU (*Laurus nobilis*), Unha de Gato (*Uncaria tomentosa*), Noz Moscada (*Myristica fragrans*), utilizadas neste estudo foram adquiridas no comércio local deste município. Já os fungos foram isolados de alimentos como: pão (AP3), batata doce (AB1, AB2, PB1), casca de laranja (PL2), queijo de cabra (PQ3) e sorvete (AS4). Esses foram cultivados individualmente, em meio Ágar batata dextrose (BDA) em condição de aerobiose na temperatura de 28°C, para identificação morfológica.

Após o isolamento, o crescimento das colônias foi acompanhado por 96 h em temperatura ambiente (28°C). Para a purificação, fragmentos de cada colônia foram transferidos para placas de Petri contendo o meio ágar batata dextrose (BDA) adicionado de cloranfenicol (100 mg.L⁻¹) e, depois de confirmada a pureza, transferido para tubo de ensaio contendo o meio BDA (9). A identificação dos espécimes foi realizada de acordo com base nas descrições de literatura especializada (ELLIS, 1971, 1976; DOMSCH & GAMS, 1993, KIRK, 1966).

Em seguida, para cada especiaria foi pesada (10 g) e adicionada em um *erlenmeyer* (250mL) individualmente. Adicionou-se uma solução hidroalcoólica (50%). Os preparados foram armazenados em bancadas protegidas da luz por oito dias à temperatura ambiente (27 °C) e umidade relativa (UR) de 78%. Após esse período os extratos foram filtrados e colocados para secar em estufa a 42 °C. O material foi ressuscitado com uma solução de dimetilsulfóxido



a 10%. Os extratos foram armazenados a -20°C , até o momento das análises. Produção do extrato bruto em fermentação submersa por fungos filamentosos. Cada fungo foi submetido individualmente a diferentes meios de cultivo para a produção dos extratos. Foram eles: meio fécula de batata (FB), meio fécula de mandioca (FM), meio leite (ML), meio peptona (PP) e meio gelatina (PG).

Todos os meios tiveram seu pH ajustados para pH 6,0 com NaOH a 1M. Posteriormente, cada *erlenmeyer* (contendo o meio individual) recebeu uma alíquota do respectivo fungo na concentração de 10^6 UFC/mL. Após a inoculação foram armazenados sob bancada protegidos da luz, na temperatura ambiente (27°C) e UR 75%. A fermentação ocorreu de forma estática por 5 dias. Após esse período, os extratos brutos foram filtrados e armazenados a -20°C , até o momento das análises.

Para avaliar a ação dos extratos produzidos, foram utilizados *S. aureus* ATCC 25923 e *Salmonella* ATCC 700623. Os microrganismos foram mantidos sob congelamento a 20°C , a reativação dos mesmos ocorreu 48 horas antes do experimento, utilizando caldo *Brain Heart Infusion* (BHI).

O teste da atividade antimicrobiana foi realizado pela técnica de difusão em disco *Kirby-Bauer* (14). Para tanto, discos de papel de filtro (10 mm) foram preparados e autoclavados a 121°C por 15 minutos. Foram preparadas placas com *Ágar Mueller Hinton* para realização dos testes. Cada bactéria foi ativada 24 horas antes da análise em caldo BHI. Em seguida, foram preparadas suspensões (10^8 UFC/mL) de cada microorganismo correspondendo a escala 0,5 de *MacFarland*. Em seguida esses microrganismos foram semeados individualmente nas placas, através da técnica de esgotamento. As placas contendo o meio sólido, receberam discos de papel de filtro e cada um, uma alíquota de $40\ \mu\text{L}$ do extrato bruto fermentado, em seguida foram incubados em estufa em condição de aerobiose a 35°C por 24 horas. O mesmo procedimento ocorreu para avaliar a eficiência dos extratos vegetais. Além disso, placas com antimicrobiano foram utilizadas como controle positivo. A atividade antimicrobiana foi avaliada pela formação de halo de inibição medido em milímetros. Todas as análises foram realizadas em duplicatas. Os dados foram tabulados utilizando o *software* Excel.

RESULTADOS E DISCUSSÃO



Os resultados da atividade antimicrobiana dos extratos vegetais contra estirpes de *Salmonella* e *S. aureus* estão na tabela 1. Podemos observar que, ambas as bactérias apresentaram resistência aos extratos de louro, unha de gato e manjeriço. Por outro lado, *S. aureus* e *Salmonella* tiveram halos de inibição de 9 e 2 mm, nesta ordem, para o OR, sugerindo sensibilidade. Resultado semelhante foi observado por (SILVA et al., 2010) utilizando também orégano contra bactérias do gênero *Salmonella*.

Tabela 01: Atividade antimicrobiana (mm) dos extratos vegetais sobre estirpes de *Salmonella* e *S. aureus*. R - estirpe resistente ao antimicrobiano, Garanhuns-PE, 2023.

Extrato	<i>Salmonella</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Unha de gato	R	R
Uxi-amarelo	R	5
Orégano	2	9
Cravo da índia	R	10
Nóz moscada	R	4
Louro	R	R
Manjeriço	R	R

Fonte: Própria, (2023).

Na tabela 1, também pode-se observar que *S. aureus* formou halo de 10 mm na presença do extrato de cravo da índia, já *Salmonella* foi resistente. Ainda com relação a *S. aureus*, foram observados halos de 5 e 4 mm para os extratos de unha de gato e nóz moscada, respectivamente. No estudo conduzido por (SILVESTRI et al., 2010), os autores relatam atividade antimicrobiana do cravo da índia contra *S. aureus*, o mesmo não foi observado para *Salmonella*, sugerindo maior eficácia contra bactérias Gram-positivas.

Na tabela 2 são apresentados os resultados da ação dos fungos isolados frente a *S. aureus*. *Penicillium* sp3 oriundo dos meios fécula de mandioca, leite, peptona e fécula de batata formam capazes de inibir o crescimento de *S. aureus*, em contrapartida, foi observado crescimento na presença do meio de gelatina, sugerindo resistência. Já os fungos *Penicillium* sp2, em contato com a placa com *S. aureus*, mostraram-se eficazes apenas nos meios peptona e gelatina.

Tabela 02: Ações antagonista dos fungos *Penicillium* sp3, *Aspergillus* 4 e *Penicillium* sp2 em diferentes meios, sobre estirpes de *Staphylococcus aureus*. FM - fécula de mandioca, PL - leite, PP - peptona, PG - gelatina, FB - fécula de batata, - indefinido.

Fungos	FM	PL	PP	PG
<i>Penicillium</i> sp3	3	5	4	R
<i>Aspergillus</i> 4	3	R	7	5
<i>Penicillium</i> sp2	R	R	5	4

Fonte: Própria, (2023).



Os resultados da ação antagonista dos fungos isolados frente a *S. enteritidis* estão presentes na tabela 3. O *Aspergillus* 4 extraído do meio peptona e proteína do leite ocasionou halos de inibição de 15 mm para a espécie bacteriana *S. enteritidis*, por outro lado, os demais apresentaram resistência.

Tabela 03: Ação antagonista dos extratos brutos, de fungos filamentosos, em diferentes meios fermentativos, sobre *Salmonella enteritidis*, halos em mm. PP-meio peptona, PG - meio gelatina; PL- leite; R- resistente.

Fungos	PP	PG	PL
<i>Penicillium sp3</i>	R	R	R
<i>Aspergillus sp2</i>	R	R	R
<i>Aspergillus 4</i>	15	R	15
<i>Penicillium sp2</i>	R	R	R
<i>Aspergillus sp3</i>	R	R	R
<i>Penicillium sp1</i>	R	R	R
<i>Aspergillus sp1</i>	R	R	R

Fonte: Própria, (2023).

Os agentes *S. enteritidis* e *S. aureus* também foram testados frente aos antimicrobianos gentamicina, ampicilina e cefalotina, sendo sensíveis a todos eles, sugerindo melhor atividade antimicrobiana que os extratos vegetais aqui testados. Costa e colaboradores (2013), avaliando a atividade antimicrobiana destas mesmas drogas (gentamicina, ampicilina e cefalotina) contra cepas de *S. aureus* isolados de mastite bovina relataram que 80% dos isolados foram resistentes a ampicilina, em contrapartida, 80% dos isolados foram sensíveis a gentamicina, resultado semelhante ao observado neste estudo, onde 100% dos isolados mostraram-se sensíveis.

CONCLUSÕES

Viu-se grande variação entre os perfis das estirpes frente aos extratos naturais de vegetais, tendo resultados positivos de inibição com uso do extrato do cravo-da-índia e orégano. Considerando a importância e o cuidado na administração de antibióticos, tendo em vista as possibilidades de causar resistência a bactérias pôr o uso indiscriminado, indevido e em excesso de fármacos. Os resultados sugerem que os estratos possuem atividades antimicrobianas contra as estirpes.

REFERÊNCIA



BARBOSA, L. N. et al. In Vitro Antibacterial and Chemical Properties of Essential Oils Including Native Plants from Brazil against Pathogenic and Resistant Bacteria. *Journal of Oleo Scienc*, v. 64, n. 3, p. 289-298, 2015.

BARROS, D. M. et al. Potencial Utilização de Sistemas Antimicrobianos Naturais como Conservantes Alimentares / Potencial Uso de Sistemas Antimicrobianos Naturais como Conservantes de Alimentos. *Revista Brasileira de Desenvolvimento*, [S. eu.], v. 6, p. 40476–40491, 2020.

CLEVELAND, J. et al. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology*, v.71, p.1-20, 2001.

COSTA G. M. et al. Resistência a antimicrobianos em *Staphylococcus aureus* isolados de mastite em bovinos leiteiros de Minas Gerais, Brasil. *Arq. Inst. Biol*, São Paulo, v. 80, n.3, p. 297-302, 2013.

DOMSCH, K.H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. *Compendium of Soil Fungi*. London, Academic Press. v.1, 1993.

ELLIS, M.B. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew. England. 608p, 1971.

ELLIS, M.B. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew. England. 507p, 1976.

KIRK, P.M.; COOPER, J. *Index Fungorum - Authors of Fungal Names*. [s.v], [s.n], 2005.

SILVA, J.P.L. et al. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella Enteritidis*. *Ciênc. Tecnol. Alimentos*, v. 30, p. 136-141, 2010.

SILVESTRI, F. D. J. et al. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb). *Rev. Ceres*, Viçosa, v. 57, n.5, p. 589-594, 2010.

SOUZA, F. R. A. et al. *Recent Pat. Anti-Infect. Drug. Discovery*. 1:224, 2006.

SisGen: A2E3828

SisGen: A9CBBB1

