

RESISTÊNCIA DA *Salmonella enteritidis* SOROTIPO *Pullorum* EM EXTRATOS DE CAPIM-LIMÃO

Sara Dacheri Kielbowicz

Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Realeza
dacherisara1@gmail.com

Ana Júlia Pereira de Melo

Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Realeza
anajulia.melo@uffs.estudante.edu.br

Maria Victoria Zangrande

Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Realeza
mzangrande@gmail.com

Maiara Garcia Blagitz

Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Realeza
maiara.azevedo@uffs.edu.br

Eixo 05: Ciências Agrárias

Resumo: A salmonelose é uma doença que infecta várias espécies animais. Algumas plantas, como a *Cymbopogon citratus* (capim-limão), possuem um potencial antibacteriano. No estudo buscou-se avaliar o efeito resistência da *salmonella enteritidis* sorotipo *pullorum* em extratos de capim-limão. Através da produção dos extratos de óleo, álcool e aquoso de capim-limão e a utilização de amostras da bactéria. Com os resultados foi comprovada a eficácia de extratos álcool e óleo essencial, entretanto o extrato aquoso não apresentou resultado satisfatório à inibição da bactéria.

Palavras-chave: Extrato aquoso. Alcoólico. Óleo essencial.

Introdução

A salmonelose é considerada uma doença infecciosa, causada pela bactéria do gênero *Salmonella*. Associada a centros urbanos, a transmissão da bactéria ocorre através de maus hábitos alimentares, tal como a ingestão de água e alimentos contaminados (SILVA, 2017).

A salmonelose é uma doença que infecta várias espécies animais como aves, mamíferos, répteis e também o homem (SEGUNDO, 2020). As aves utilizadas para corte são notáveis transmissoras da bactéria causadora da salmonelose (CORTEZ, 2006).

Existem frequentes modificações taxonômicas, mas a mais recente indica a existências de duas espécies: *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*, havendo ainda uma gama de sorotipos, entretanto apenas os sorotipos de *S. enterica* subespécie *enterica* afetam os mamíferos (SILVA, 2017).

O agente causador da salmonelose é uma bactéria Gram-negativa, pertencente à família *Enterobacteriaceae* e o formato de suas células em forma de bastonetes. Entre as principais características desse agente está a sua não formação de esporos e capacidade de facultativa intracelular, ou seja, a capacidade de se alojar e se reproduzir dentro dos macrófagos e por fim a respiração aeróbia ou anaeróbia (SILVA, 2017; SEGUNDO, 2020).

A porta de entrada da bactéria é através da cavidade oral e possui tropismo pelo sistema digestório, especialmente pelo íleo e o ceco, em suas porções terminais. O bacilo provoca a destruição de enterócitos e estimula a reação inflamatória, causando uma enterite fibrinopurulenta. Como consequência, ocorre um grave desequilíbrio ácido-básico e hidroeletrólítico, em decorrência da perda de eletrólitos, proteínas e água. Devido aos diversos desequilíbrios fisiológicos causados pela infecção, o animal acometido com a salmonelose irá apresentar diarreias sanguinolentas, febre, perda de apetite, depressão e desidratação.

De acordo com Segundo (2020), esse microrganismo é consideravelmente resistente a fatores ambientais. Seu pH é entre 7,0 e 7,5, todavia a bactéria possui uma grande tolerância ácida devido a sua composição genética. A temperatura ideal para sua sobrevivência é de 35° a 43°, como exemplo de situações extremas, o pH de de 3,8 a 9,5 e temperaturas de 5°C a 46°C e processos de salmoura, podem não destruir a bactéria.

Apesar da considerável resistência do agente causador da salmonelose a fatores ambientais, a resistência a antibióticos tem chamado à atenção. Em um estudo realizado por Cortez e seus colaboradores (2006), avaliou a resistência de antimicrobianos em sorotipos de *Salmonella spp.* em aves de corte e constatou que nenhuma de suas amostras apresentou 100% de sensibilidade aos antimicrobianos de uso comum. Dentro deste contexto o presente estudo tem por objetivo avaliar o efeito resistência da *salmonela enteritidis* sorotipo *pullorum* em extratos aquoso, alcoólico e óleo essencial de capim-limão.

Desenvolvimento

Referencial teórico

Algumas plantas possuem propriedades terapêuticas e compõem uma nova estratégia de compostos ativos biologicamente. Os denominados óleos essenciais possuem diversas características, dentre elas, seu potencial antibacteriano, antifúngico e inseticida. Entretanto, a comprovação da eficácia ainda é um desafio para a pesquisa, pois envolvem aspectos importantes da medicina popular e tradicional (CORTEZ, 2006).

Estudos realizados por Geromini et al. (2012), avaliou a atividade antimicrobiana de diversos óleos essenciais, dentre eles *Lippia alba* (erva-cidreira-brasileira), *Mentha piperita* (hortelã-pimenta), *Ocimum gratissimum* (alfavaca-cravo) e *Rosmarinus officinalis* (alecrim) e demonstrou um grande potencial inibitório no crescimento da maioria dos microrganismos que estavam sendo testados.

A fim de colaborar para a confirmação de eficácia de compostos naturais, o presente estudo teve como objetivo a avaliar resistência da *salmonela enteritidis* sorotipo *pullorum* em extratos de *Cymbopogon citratus* (capim-limão), conhecida popularmente como erva cidreira.

De acordo com Gomes, Negrelle e Filho (2007), o capim limão, *Cymbopogon citratus*, atualmente, é considerada um dos mais importantes produtos produzidos em território paranaense e é utilizada para produção de diversos produtos especiais, como controle de pragas e doenças. Desta forma, evidenciou-se por meio desse estudo a resistência da bactéria *Salmonela* em extratos (aquoso, alcoólico e óleo essencial) de capim-limão.

Material e métodos

O experimento foi realizado no laboratório de análise de alimentos do Centro Universitário UNISEP - União de Ensino do Sudoeste do Paraná, *Campus* Dois Vizinhos. A coleta das folhas de capim limão para o uso no experimento foi feita em uma propriedade próxima ao *Campus* universitário. Após isso, fez-se o processo de produção dos extratos de óleo, álcool e aquoso de capim-limão para a utilização em amostras *in vitro* da bactéria a *Salmonela enteritidis* sorotipo *pullorum*.

Em primeiro lugar, em um balão volumétrico de dois litros as folhas do capim-limão foram trituradas e misturadas a 1.000 mL de água. Para o processo de obtenção do óleo, foi necessário a evaporação e a condensação dos líquidos presentes, provocando uma ebulição da água juntamente ao óleo, processo chamado de hidrodestilação. A realização desta etapa foi feita através de um aparelho de Clevenger (nome, marca, ano) com a acoplação do balão

volumétrico sob uma manta aquecedora (2.000 mL, modelo 0321A26, 220v). Em aproximadamente uma hora obteve-se a separação da água e do óleo.

O óleo obtido foi alocado em um tubo de ensaio e enrolado em um frasco recoberto por papel alumínio a fim de evitar que não ocorresse um processo oxidativo devido à incidência solar. Dessa forma, após algum tempo obteve-se o óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (capim-limão).

Para obtenção do extrato alcoólico, as folhas foram fracionadas e colocadas em um Becker de 360 mL. Depois, as mesmas foram mergulhadas em álcool 70% e na sequência, foi tampada e aquecida a solução em uma chapa. Esperou-se ferver, esfriar e então a solução alcoólica foi transferida para um frasco estéril de 60 mL com tampa de rosca, devidamente identificado.

O processo de obtenção do extrato aquoso foi semelhante a preparação de um chá. As folhas foram picadas em um balão de Erlenmeyer de 400 mL e levadas para a chapa de aquecimento, tendo o mesmo fim do extrato anterior.

Após a obtenção dos extratos de capim-limão, a próxima etapa da pesquisa foi a inoculação da bactéria (*Salmonella Enteritidis Sorotipo Pullorum*) em duas microplacas. O teste foi triplicado e em cada coluna adicionou-se uma concentração diferente dos três extratos. Nas linhas A, B, C, F, G e H (primeira placa) e A, B, C e H (segunda placa), colocou-se um caldo nutritivo, o Ágar Mueller Hinton, com o uso de uma micropipeta de 20 μL .

Na primeira placa, as linhas A, B e C foram preenchidas com óleo essencial que foi misturado com água e um homogeneizador de substâncias apolar, o Tween 80, através do auxílio de uma micropipeta de 20 μL . Em F, G e H, o extrato aquoso foi depositado com a micropipeta, com a mesma quantidade.

Na segunda placa, as linhas A, B e C receberam 20 μL do extrato alcoólico. Em seguida, homogeneizaram-se quatro vezes todas as colunas (até o número 12) e linhas mencionadas, com a micropipeta ainda ajustada em 20 μL , trocou-se sua ponteira em cada sítio de inoculação, retirando 20 μL de cada linha e desprezando o líquido final. A concentração das substâncias era de 4.000 $\mu\text{g ML}^{-1}$ e diminuiu-se pela metade a cada homogeneização.

A bactéria foi coletada através de um *swab* e armazenada no caldo nutritivo para serem usados 10 μL em todas as linhas das duas placas, entretanto sem contato com as substâncias já presentes.

Após a execução de todos os procedimentos, as placas foram tampadas e armazenadas em uma estufa a 36°C, por 20 horas, para a realização das análises de resultados. No momento de pré-leitura adicionado 10 µL de um revelador (cloreto de trifênil tetrazólio) em cada linha e armazenada novamente na estufa por dez minutos, a 37°C, fazendo com que substância de cloreto agisse sobre os extratos e sobre a bactéria, evidenciando se as alternativas apresentaram ou não eficácia.

Resultados e Discussão

A extração de óleo essencial das folhas de capim-limão obteve resultados satisfatórios na eliminação da *Salmonella enteritidis sorotipo pullorum*. Quando as folhas foram submetidas à ação do aparelho de Clevenger, teve a absorção de aproximadamente 1 mL⁻¹ deste óleo. O primeiro extrato inibiu o crescimento da bactéria até a sétima coluna da placa utilizada, nas demais houve surgimento das bactérias, deixando o líquido com coloração rosada. A concentração mínima para impedir a ação da bactéria foi de 31,25 µg ML⁻¹.

Em relação às placas que receberam tratamento com o extrato aquoso, verificou-se que a *Salmonella* prevaleceu, inibindo qualquer ação proveniente deste chá, isso pode ser devido a utilização da substância em temperatura ambiente.

O extrato alcoólico, que após fervura adquiriu uma coloração esverdeada e vetou a atividade bacteriana. Embora os resultados não possam ser generalizados, o funcionamento do extrato teve êxito apenas até a coluna seis da microplaca. A CBI (Concentração Bactericida Mínima) para impedir a ação da bactéria foi de 62,5 µg ML⁻¹. Os valores obtidos para os três tipos de extrato de folhas de capim-limão podem ser observados na tabela abaixo.

Tabela 1 – Concentração mínima indicada em três diferentes tipos de extrato de folhas de capim-limão

Extratos	Concentração
Óleo	31,25 µg ML ⁻¹
Aquoso	Sem efetividade.
Alcoólico	62,50 µg ML ⁻¹

Fonte: Kielbowicz (2022).

Constatou-se que a erva cidreira possui ação antibacteriana comprovada, além de ser antifúngica, antimicrobiana, carrapaticida, anti-helmíntica, entre outros (FALCÃO, 2012).

O extrato aquoso das folhas da planta não apresentou valor de toxicidade aparente, isso pode explicar o fato de o chá não ter inibido qualquer ação possível da bactéria.

Conclusão

De acordo com os resultados obtidos nessa pesquisa verificou-se que o efeito obtido pelos testes é quantitativo, uma vez que envolveram quantidades referentes a placas que sofreram satisfatórios ou insatisfatórios para a pesquisa. Como visto nas ocorrências anteriores, o óleo essencial do capim-limão apresentou maiores efeitos sobre a *Salmonella enteritidis* sorotipo *pullorum*, eliminando parcialmente a proliferação da presente bactéria.

Comparando os valores obtidos do óleo com a ação do extrato alcoólico, este por sua vez atingiu uma eliminação razoável, em menor quantidade que o primeiro citado. Observou-se também que o extrato aquoso, não é cientificamente indicado para inibir a ação da *Salmonella spp.*

Referências

CORTEZ, A. L. L.; CARVALHO, A. D. F.; IKUNO, A. A.; BÜRGER, K. P.; MARTINS, A. M. C. Resistência antimicrobiana de cepas de *Salmonella spp.* isoladas de abatedouros de aves. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, p. 157-163, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aib/a/YnytQQctGrWkmVWCzXD3>. Acesso em: 10 de ago. 2022.

DA SILVA, D. G. Salmonelose. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 15, n.2, p. 109-112, 2017. Disponível em: <https://periodicos>. Acesso em: 09 de agosto de 2022.

FALCÃO, M. A. Estudo da atividade antimicrobiana do óleo essencial de capim limão e suas frações para produtos de higiene corporal. **Revista PUCRS**, 2012. Disponível em: <https://tede2.pucrs.br/tede2/handle/tede/3195>. Acesso em 14 ago. 2022.

GEROMINI, K. V. N.; RORATTO, F. B.; FERREIRA, F. G.; POLIDO, P. P.; SOUZA, S. G. H.; VALLE, J. S.; COLAUTO, N. B.; LINDE, G. A. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas medicinais. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 15, n. 2, p. 127-131, 2012. Disponível em: <https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront>. Acesso em: 12 ago. 2022.

MACHADO, T. F. Atividade antimicrobiana do óleo essencial do capim limão (*Cymbopogon citratus*) e sua interação com os componentes dos alimentos. 2015.

SEGUNDO, R. F. Salmonelose ocasionada por produtos de origem animal e suas implicações para saúde pública: revisão de literatura. **Brazilian Journal**, v. 3, n. 4, p. 3715-3746, 2020. Disponível em: <https://brazilianjournals.com/ojs/index>. Acesso em: 09 ago. 2022.

SILVA, F. F. M. Análise da composição química do óleo essencial de capim santo (*Cymbopogon citratus*) obtido através de extrator por arraste com vapor d' água construído com materias de fácil aquisição e baixo custo. **Holos**, v. 4, p. 144-152, 2014. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/4815/481547173016.pdf>. Acesso em: 12 ago. 2022.