

POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO EXTRATO AQUOSO DE CAJUI (*ANACARDIUM HUMILE*) CONTRA *SALMONELLA* TYPHIMURIUM

Álissy Fernanda Cardoso Vieira Valois, Cláudia Vieira Prudêncio.

Universidade do Oeste da Bahia campus Barreiras, Rua da prainha, 1326, Morada Nobre - 47810-047
- Barreiras – BA, Brasil, alissy.v6217@ufob.edu.br, claudia.prudencio@ufob.edu.br.

Resumo

A indústria alimentícia tem demonstrado interesse na utilização de compostos vegetais como conservantes naturais de alimentos, devido aos prejuízos à saúde causados por substâncias artificiais e a necessidade de impedir o crescimento de bactérias que podem ocasionar doenças de transmissão hídrica e alimentar. Assim, o presente estudo objetivou analisar o potencial antimicrobiano do extrato aquoso das folhas de cajuí (*Anacardium humile*) contra *Salmonella* Typhimurium. Para isso, foi avaliada a concentração mínima inibitória (MIC) por meio de microdiluição e a concentração mínima bactericida (MBC) de concentrações entre 0 e 10,0 mg/mL. O extrato aquoso de cajuí apresentou atividade antimicrobiana, com MIC e MBC de 2,5 mg/mL. Esses resultados podem ser relacionados a presença de compostos fenólicos como taninos, que agem no metabolismo bacteriano, inibindo enzimas e/ou na complexação com íons metálicos. Nossos resultados indicam que o extrato de cajuí pode ser promissor para controle deste patógeno. Porém, faz-se necessário mais estudos em matrizes alimentares.

Palavras-chave: Cajuí. Anacardium. Alimentos. Conservante. Micro-organismos.

Área do Conhecimento: Ciência e Tecnologia de Alimentos

Introdução

Uma das atuais preocupações de saúde pública são os surtos de doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA), causadas por falta ou negligência na adoção de Boas Práticas de Fabricação (BPF), o que favorece a contaminação dos alimentos e/ou água por materiais biológicos, químicos ou físicos que podem ocasionar danos ao consumidor (BASTOS *et al.*, 2021; KISSMANN *et al.*, 2022; DE VERÇOZA *et al.*, 2024). Dentre esses contaminantes, as bactérias patogênicas e seus produtos tóxicos se destacam, tais como *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* e *Clostridium botulinum* (BASTOS *et al.*, 2021; BISPO *et al.*, 2022; MACHADO, PEREIRA E MAGALHÃES, 2023; RIBEIRO *et al.*, 2023). Nesse sentido, *Salmonella* é considerada como um patógeno de difícil controle, o que pode possibilitar seu envolvimento em doenças, e até mesmo em pandemias (RAMOS *et al.*, 2021; OMS, 2024).

Os surtos de DTHA são responsáveis por um elevado número de mortes e hospitalizações em todo o mundo (DE OLIVEIRA VIDAL *et al.*, 2022). De acordo com dados da Organização Pan-Americana da Saúde, as DTHA provocam mais de 400.000 mortes por ano, além de prejuízos em produtividade, comércio e economia (OPAS, 2022). Exemplos do impacto econômico das DTHA incluem os gastos com tratamentos destas doenças, que em países desenvolvidos é de cerca de 15 bilhões de dólares por ano; e as estimativas de perda de produtividade, que em países subdesenvolvidos gera um prejuízo de 95 bilhões de dólares por ano (OPAS, 2019).

Por outro lado, a resistência microbiana (RAM) também representa um desafio para a saúde pública, em virtude da ineficácia de diversos medicamentos no tratamento de doenças de alta relevância causadas por bactérias resistentes (VELAZQUEZ-MEZA, 2022; TANG, MILLAR E MOORE, 2023). A RAM é definida pela capacidade de micro-organismos adquirirem genes e características de outros micro-organismos de modo que consigam se proteger da ação de antimicrobianos utilizados para seu controle (PULINGAN *et al.*, 2022; SALAM *et al.*, 2023). Nessa perspectiva, o uso indiscriminado de antibióticos, nos setores da saúde e agropecuária, é um dos principais agravantes desse problema (PULINGAN *et al.*, 2022; TANG, MILLAR E MOORE, 2023). Entre bactérias multirresistentes que já foram isoladas está a *Salmonella* resistente a ampicilina detectada em carnes de frango e pato (KUMAR *et al.*, 2019; AHMAD *et al.*, 2021).

Neste contexto, uma das maneiras encontradas pela indústria para favorecer a segurança dos alimentos e prevenir a ocorrência de DTHA é o emprego de aditivos alimentares, artificiais ou naturais, no processamento de produtos alimentícios (FERREIRA *et al.*, 2020; RIBEIRO *et al.*, 2023). Os conservantes são os aditivos mais utilizados para este fim, visando impedir o crescimento microbiano e a deterioração química e, conseqüentemente, aumentar a vida útil do alimento (FERREIRA *et al.*, 2020; RIBEIRO *et al.*, 2023). Todavia, alguns aditivos artificiais têm demonstrado prejuízos à saúde, como nitrito e nitrato de sódio, butil-hidroxianisol butilado e hidroxitolueno, o que favorece a busca por aditivos de origem natural (DE BRITO e ANDRADE, 2022; WEBER, 2022). Nesse sentido, diversos compostos como óleos essenciais e extratos vegetais têm sido avaliados como antimicrobianos e conservantes alimentares (MARTELLI *et al.*, 2021; RIBEIRO *et al.*, 2023).

Biomass pouco conhecidos, como o Cerrado brasileiro podem representar uma importante fonte de compostos bioativos, dada a sua ampla biodiversidade de vegetais (SILVA, 2020; BATISTOTE, DO SOCORRO MASCARENHAS, 2022). Metabólitos secundários de plantas, como compostos fenólicos, flavonóides, tocoferóis, terpenos, taninos, podem apresentar atividade antimicrobiana, e já foram identificados em espécies deste bioma, como por exemplo em pequi (*Caryocar brasiliense*), jatobá (*Hymenaea courbaril*), cagaita (*Eugenia dysenterica*), buriti (*Mauritia flexuosa*), araticum (*Annona crassiflora*) e caju (*Anacardium occidentale*) (REIS e SCHMIELE, 2019; DE CASTRO, FONTES E DA SILVA, 2021; BATISTOTE, DO SOCORRO MASCARENHAS, 2022; RODRIGUES, 2023). Destarte, o objetivo desse estudo foi avaliar o potencial antimicrobiano do extrato de cajuí (*Anacardium humile*), um vegetal característico do Cerrado ainda pouco estudado, contra *Salmonella Typhimurium*.

Metodologia

O extrato aquoso foi preparado com folhas de *Anacardium humile* de acordo com os métodos adaptados de Cercato *et al.* (2016). Após a liofilização, o extrato foi mantido sob refrigeração (8 ± 2 °C) em dessecador. Antes do uso, o extrato foi solubilizado com água destilada estéril.

Para avaliação da atividade antimicrobiana, a cultura de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium ATCC 14028 era cultivada em caldo infusão cérebro coração (BHI) a 35 ± 2 °C por 24 horas. Após o cultivo, as células eram coletadas por centrifugação a 4000 rpm por 10 minutos, lavadas e ressuspendidas em solução salina 0,85%.

A concentração mínima inibitória (CMI) foi avaliada em microplacas, conforme metodologia adaptada do CLSI (CLSI, 2016). Para isso, o patógeno foi inoculado em concentração de 10^5 UFC/mL em caldo BHI, acrescido ou não de extrato de cajuí, em concentração de 0,039 e 10 mg/mL. As microplacas foram seladas com película própria e incubadas em leitor de ELISA a 36 ± 1 °C por 24 horas. Durante a incubação, foram realizadas leituras de absorbância a 600 nm a cada 15 minutos. Foram realizadas quatro repetições e a existência de diferenças foi avaliada com uso do teste de Tukey a 0,05 e auxílio do programa Agroestat. Já a concentração mínima bactericida (CMB) foi analisada através do plaqueamento de alíquotas de cada poço em placas com ágar padrão de contagem (PCA), que foram incubadas a 35 ± 2 °C por 24 horas para análise de crescimento.

Resultados

O extrato aquoso de cajuí demonstrou potencial antimicrobiano contra *Salmonella Typhimurium* (Tabela 1). A adição de concentrações acima de 0,04 mg/mL reduziu a densidade máxima do micro-organismo, de forma diretamente proporcional ao aumento da concentração do extrato. A CMI e a CMB foram observadas na concentração de 2,5 mg/ml.

Tabela 1- Densidade ótica máxima de *Salmonella* Typhimurium em meio BHI acrescido ou não de extrato aquoso de folhas de cajuí (*Anacardium humile*) após 24 horas de cultivo a 36 ± 1 °C.

Extrato aquoso de folhas de cajuí (mg/mL)	Média $\pm$ DP
10	0,136 ^g $\pm$ 0,024
5	0,053 ^g $\pm$ 0,029
2,5	0,338 ^f $\pm$ 0,061
1,25	0,540 ^e $\pm$ 0,018
0,63	0,604 ^{de} $\pm$ 0,028
0,31	0,655 ^{cd} $\pm$ 0,038
0,16	0,787 ^b $\pm$ 0,040
0,08	0,734 ^{bc} $\pm$ 0,054
0,04	0,623 ^{cde} $\pm$ 0,059
0,02	0,954 ^a $\pm$ 0,045
0	0,961 ^a $\pm$ 0,015

Nota: Médias seguidas por uma mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 0,05. Fonte: as autoras.

Discussão

O gênero *Anacardium* é um dos mais populares do Cerrado brasileiro sendo a espécie *Anacardium occidentale* a mais estudada e com maior aplicação na medicina popular como analgésico, anti-hipertensivo, antidiarreico e anti-inflamatórios (SALEHI *et al.*, 2020; ALVARENGA *et al.*, 2023). O potencial antimicrobiano já foi revelado em outra espécie desse gênero, o *Anacardium excelsum* (caracolí) (ROJAS *et al.*, 2021). O estudo de Rojas *et al.* (2021) demonstraram que o extrato hidroalcoólico das folhas de *A. excelsum* na concentração 10 mg/mL apresentou atividade inibitória contra *Streptococcus mutans*, *S. aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*.

Todavia, *A. humile* é uma espécie pouco estudada, cujas potenciais atividades biológicas ainda precisam ser avaliadas (ALVARENGA *et al.*, 2023). Nossos resultados indicam o potencial antimicrobiano do extrato aquoso desta espécie contra um importante patógeno, *Salmonella* Typhimurium (Tabela 1). Este potencial já havia sido previamente demonstrado *in vitro* contra *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* e *S. aureus* (BAPTISTA, DO NASCIMENTO E PELUZIO, 2021). Neste estudo, o extrato etanólico das folhas de *A. occidentale* e *A. humile* exibiu CMI entre 3,12 mg/mL e 50 mg/mL para as bactérias gram-negativas (BAPTISTA, DO NASCIMENTO E PELUZIO, 2021). Esses resultados conversam com a CMI observada no presente estudo, que foi de 2,5 mg/mL contra *Salmonella* Typhimurium. Variações entre os valores de CMI podem ser justificadas por diferenças na sensibilidade do micro-organismo alvo e no perfil de compostos bioativos presentes no extrato, que é alterado de acordo com líquido extrator e a metodologia utilizada para extração (DA SILVA MELO, DE LA CRUZ LUI, 2021; BARROS, 2021; DA SILVA-REIS *et al.*, 2024). A atividade antimicrobiana do extrato de *A. humile* possivelmente está relacionada à presença de compostos bioativos, como taninos, flavonóides, saponinas e triterpenos nas folhas desta espécie e de outras do mesmo gênero (EVANGELISTA E LEÃO, 2021; BAPTISTA, DO NASCIMENTO E PELUZIO, 2021; ALVARENGA *et al.*, 2023). Folhas de *A. occidentale* são ricas em compostos fenólicos, principalmente taninos, relacionados ao sabor adstringente do fruto, e flavonóides, que conferem a coloração amarela ao fruto (LOPES, 2023). Estes compostos possivelmente estão associados a atividade antimicrobiana desta espécie, por mecanismos ainda não completamente esclarecidos como a inibição de enzimas, complexação com íons metálicos e/ou pela

interferência do metabolismo bacteriano, que são relacionados aos taninos e a atividade antioxidante característica dos flavonoides (LOPES, 2023).

Conclusão

O extrato aquoso de *A. humile* exibiu atividade antimicrobiana contra *Salmonella* Typhimurium. Essa atividade é interessante pela possibilidade de uso para conservação de alimentos, de forma a favorecer a segurança dos produtos e o controle das doenças de transmissão hídrica e alimentar.

No entanto, ainda são necessários outros estudos com aplicação em matriz alimentar, e com a identificação e quantificação de compostos bioativos presentes. Tais estudos podem permitir identificar potenciais aplicações desta e de outras espécies do Cerrado brasileiro.

Referências

AHMAD, Iqbal et al. Environmental antimicrobial resistance and its drivers: a potential threat to public health. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 27, p. 101-111, 2021.

ALVARENGA, Tavane Aparecida et al. O gênero *Anacardium*: composição química e propriedades biológicas. In: **PLANTAS MEDICINAIS E SUAS POTENCIALIDADES**. Editora Científica Digital, 2023. p. 92-109.

BAPTISTA, Anderson Barbosa; DO NASCIMENTO, Guilherme Nobre Lima; PELUZIO, Maria do Carmo Gouveia. Atividade antioxidante e microbiológica in vitro de extratos de folhas de *Anacardium occidentale* L. **Revista Cereus**, v. 13, n. 3, p. 83-98, 2021.

BARROS, Carla Luana Neres de. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos tradicionais e ayurvédicos de *Curcuma longa* L. 2021.

BASTOS, Fabio Fadel et al. CONTAMINAÇÃO BIOLÓGICA: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. **Revista Higei@-Revista Científica de Saúde**, v. 3, n. 5, 2021.

BATISTOTE, Margareth; DO SOCORRO MASCARENHAS, Maria. Frutos do Cerrado: fonte de compostos bioativos com alto potencial de aplicabilidade. **Revista Cereus**, v. 14, n. 4, p. 239-250, 2022.

BISPO, Vitória Garcez et al. Principais agentes etiológicos envolvidos em surtos de doenças veiculadas por alimentos nos últimos anos. In: **CIÊNCIAS DA SAÚDE: DESAFIOS E POTENCIALIDADES EM PESQUISA**. Editora Científica Digital, 2022. p. 276-284.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility document M100-S26. 26th ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016, 177 p. Inglês.

DA SILVA MELO, Fabio Junio; DE LA CRUZ LUI, Camille. Propriedades farmacológicas da droga vegetal *Punica granatum* L. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 7, n. 6, p. 202-210, 2021.

DA SILVA-REIS, Cristiane Mendes et al. Influência do solvente e do método de extração na atividade antioxidante e no conteúdo total de polifenóis de extratos de polpas de abacate, pitaiá e uva. **CONTRIBUCIONES A LAS CIENCIAS SOCIALES**, v. 17, n. 4, p. e6277-e6277, 2024.

DE BRITO, Ana Cláudia Tavares; ANDRADE, Jerusa Souza. Aditivos alimentares: impacto que pode causar na saúde humana. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 11, n. 11, pág. e489111133929-e489111133929, 2022.

DE OLIVEIRA VIDAL, Bruna Thays et al. A importância das boas práticas na prevenção de doenças transmitidas por alimentos (DTAS) em unidades de alimentação e nutrição (UAN). **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 5, p. 39320-39333, 2022.

DE VERÇOZA, Andressa Bruna Batista et al. Doenças transmitidas por alimentos e surtos alimentares: uma revisão. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 7, n. 1, p. 7236-7250, 2024.

EVANGELISTA, Sérgio Santos; LEÃO, Katyúscya Veloso. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DO USO MEDICINAL DAS FOLHAS, CASCA E CAULE DA ESPÉCIE ANACADIUM HUMILE A. ST-HIL. AA. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, v. 2, n. 3, p. 03-03, 2021.

FERREIRA, RAFAELA DIAS et al. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DE CONSERVANTES ALIMENTARES PARA O CONTROLE DE SALMONELLA TYPHIMURIUM. **HOLOS**, v. 4, p. 1-14, 2020.

KISSMANN, Kristian Emanuel et al. Percepção de consumidores sobre doenças veiculadas por alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 25, p. e2021123, 2022.

LOPES, Francisco Antonio Mabson Henrique et al. Estudos das características físicas e químicas das folhas do cajueiro (*Anacardium occidentale*) e suas aplicações tecnológicas. 2020.

MARTELLI, Eloiza Cristina et al. Uso de substâncias bioativas como conservantes naturais em formas farmacêuticas: uma revisão. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 2, p. 8120-8133, 2021.

MACHADO, Terezinha Feitosa; PEREIRA, Rita de Cássia Alves; MAGALHÃES, Hilton César Rodrigues. Óleos essenciais no controle in vitro de bactérias patogênicas e deterioradoras de alimentos. **Brazilian Journal of Development**, v. 9, n. 4, p. 13761-13775, 2023.

OPAS. PANAFETOSA alerta que doenças transmitidas por alimentos podem ser evitadas com ações preventivas do campo à mesa. 2022. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/7-6-2022-panafetosa-alerta-que-doencas-transmitidas-por-alimentos-podem-ser-evitadas-com>

PULINGAM, Thiruchelvi et al. Antimicrobial resistance: Prevalence, economic burden, mechanisms of resistance and strategies to overcome. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 170, p. 106103, 2022.

RIBEIRO, Charles Lima. **Compostos bioativos vegetais: uma perspectiva de plantas úteis à saúde e conservação do Cerrado**. Tese de Doutorado. Universidade Evangélica.

RIBEIRO, Bárbara Raianne Silva Carneiro et al. ATIVIDADE CONSERVANTE DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM ALIMENTOS: UMA REVISÃO DA LITERATURA. **Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-UNIT-SERGIPE**, v. 8, n. 1, p. 63-76, 2023.

RODRIGUES, Antônio Rony da Silva Pereira. Potencial antioxidante, antimicrobiano, anti-inflamatória e antifúngica da *Anacardium occidentale* (Linn): Revisão de literatura. **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, v. 52, n. 1, 2023.

ROJAS, Andrés M. et al. *Anacardium excelsum* phytochemical analysis and in vitro antimicrobial activity against oral cavity microorganisms. **Acta Odontológica Latinoamericana**, v. 34, n. 2, p. 127, 2021.

SALAM, Md Abdus et al. Antimicrobial resistance: a growing serious threat for global public health. In: **Healthcare**. MDPI, 2023. p. 1946.

SALEHI, Bahare et al. Antioxidant, antimicrobial, and anticancer effects of *anacardium* plants: an ethnopharmacological perspective. **Frontiers in Endocrinology**, v. 11, p. 295, 2020.

SILVA, Donizete Xavier. Investigação de compostos bioativos e atividade antioxidante em frutos do cerrado tocantinense. **Revista Cereus**, v. 12, n. 1, p. 64-76, 2020.

TANG, Ka Wah Kelly; MILLAR, Beverley C.; MOORE, John E. Antimicrobial resistance (AMR). **British Journal of Biomedical Science**, v. 80, p. 11387, 2023.

VELAZQUEZ-MEZA, Maria Elena et al. Antimicrobial resistance: one health approach. **Veterinary world**, v. 15, n. 3, p. 743, 2022.

WEBER, Fernanda Hart et al. Percepções dos consumidores sobre a rotulagem nutricional para aquisição de alimentos em Boa Vista do Buricá/RS. **Revista Eletrônica Científica da UERGS**, v. 8, n. 1, p. 22-31, 2022.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia - FAPESB.