



## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA PEDIOCINA ENCAPSULADA FRENTE A LINHAGENS DE *Listeria*

**MELLO, Michele Brauner<sup>1</sup>; JANTZEN, Márcia Monks<sup>2</sup>; MALHEIROS, Patrícia da  
Silva<sup>3</sup>; BRANDELLI, Adriano<sup>3</sup>; MOTTA, Amanda de Souza<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, UFPel,  
Pelotas/RS, Brasil, [amanda.motta@ufpel.edu.br](mailto:amanda.motta@ufpel.edu.br)

<sup>2</sup> Química de Alimentos, FAT, UFPel, Pelotas/RS, Brasil.

<sup>3</sup> Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFRGS, Porto Alegre/RS, Brasil

### 1. INTRODUÇÃO

As bacteriocinas são peptídeos ou proteínas biologicamente ativos, que variam de acordo com seu peso molecular, possuem ação bactericida ou bacteriostática. A grande maioria desses peptídeos é termoestável, permitindo-lhes manter a sua atividade antimicrobiana a temperaturas similares as normalmente utilizadas na indústria de alimentos (JOERGER *et al.*, 1990).

O uso das bacteriocinas como agentes antimicrobianos, tem sido estudado por diversos pesquisadores. Estes compostos possuem atividade antimicrobiana contra microrganismos patogênicos e deteriorantes de alimentos como: *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Pseudomonas aeruginosa*. Estas bacteriocinas são efetivas em baixas concentrações e não promovem alterações na qualidade sensorial do produto (NASCIMENTO *et al.*, 2008). Novas alternativas têm sido propostas para a utilização destas substâncias em alimentos, sendo proposto seu emprego em embalagens ou mais recentemente, a encapsulação destes peptídeos, promovendo um prolongamento do seu efeito bioprotetor no alimento.

O queijo é um produto bastante consumido e há relatos da sua produção a partir do leite cru, o que desperta a preocupação quanto à segurança alimentar. Independente disto existe relatos do isolamento de linhagens de *Listeria* a partir destes produtos, o que desperta o interesse para novas alternativas considerando a biopreservação de alimentos, através da aplicação destes peptídeos antimicrobianos (ABRAHÃO *et al.*, 2008). Este trabalho teve como objetivo testar a atividade antimicrobiana da bacteriocina Pediocina livre e encapsula em linhagens de *Listeria*, *in vitro*, com o propósito de verificar suas respectivas eficiências. A incorporação desses peptídeos em nanovesículas vem sendo pesquisada como uma nova alternativa de controlar a liberação e a estabilidade das bacteriocinas aplicadas em alimentos, e este trabalho fornecerá dados para a posterior avaliação desta bacteriocina no queijo minas padrão.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se para os testes de atividade antimicrobiana linhagens de *Listeria monocytogenes* e *Listeria innocua*. A bacteriocina aplicada no experimento foi do Fabricante Kerry, Marca ALTA™ 2345. Os testes foram realizados *in vitro*, pelo Método de Difusão em Ágar com Discos (MOTTA; BRANDELLI., 2002). Para o preparo das bactérias indicadoras, foi feita uma suspensão de cada uma das linhagens testadas, padronizando a densidade ótica (600 nm) da suspensão para aproximadamente 0.150, o que corresponde a Escala de MacFarland 0.5, tendo-se aproximadamente  $10^8$  UFC/ml (unidades formadoras de colônia por mililitro). Esta bactéria indicadora foi espalhada na superfície de uma placa de petri, que continha Ágar Tryptic Soy Broth (TSB), com o auxílio de um swab estéril, após aplicou-se então os discos de celulose esterilizados sobre a superfície da placa. O preparo da bacteriocina pediocina para os testes foi feito para que a mesma seja usada de forma encapsulada e livre. A pediocina livre foi diluída em 10 ml de solução NaCl 0,85%, filtrou-se o preparado com filtro Millipore 0.22  $\mu$ m. Posteriormente para a encapsulação da pediocina preparou-se os lipossomas pelo método de Hidratação do Filme Lípidico, logo após levou-se a substância ao sonicador de banho à 56°C por aproximadamente 30 min, com a finalidade de diminuir e uniformizar o tamanho dos lipossomas. Preparou então as diluições seriadas em placa de Elisa contendo a pediocina. Estas substâncias foram aplicadas sobre os discos, em alíquotas de 20  $\mu$ l. As placas foram incubadas a 37°C por 24 e 48 horas e posteriormente foram feitas as leituras para a verificação da formação de halos.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A tabela 1 demonstra os resultados obtidos nos testes *in vitro*.

Tabela 1 - Determinação das Unidades Arbitrárias por Mililitro (UA/mL)

<b>Bactéria indicadora</b>	<b>Pediocina livre (UA/mL)</b>	<b>Pediocina encapsulada(UA/mL)</b>
<i>Listeria monocytogenes</i> 4C	800 UA/ml	800 UA/ml
<i>Listeria monocytogenes</i> 17D78/03	800 UA/ml	800 UA/ml
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	800 UA/ml	800 UA/ml
<i>Listeria monocytogenes</i> (fígado cobaio)	800 UA/ml	800 UA/ml
<i>Listeria innocua</i> 1572	800 UA/ml	800 UA/ml
<i>Listeria innocua</i> ATCC 33090 4 <sup>R</sup>	800 UA/ml	800 UA/ml

Os testes realizados mostram que tanto a pediocina livre, quanto a pediocina encapsulada apresentaram atividade frente às linhagens de *L. monocytogenes* e *L. innocua*. Trabalhos relatam a eficácia da pediocina livre frente ao microrganismo *Listeria*, porém a pesquisa com pediocina encapsulada, é muito recente, sendo assim não se deve fazer inferências, pois ainda não há relatos publicados com esta técnica utilizando a pediocina (SCHULZ *et al.*, 2003).

#### 4. CONCLUSÃO

O estudo das bacteriocinas tem contribuído ao longo dos anos de sua descoberta, para a tentativa de minimizar a ação de microrganismos patógenos, que são grandes causadores de doenças veiculadas pela ingestão de alimentos contaminados por microrganismos, dentre eles *L. monocytogenese*, bactéria esta, que pode causar aborto, infecções perinatais, septicemias e meningoencefalites. Com os testes realizados, podemos observar que a pediocina livre e a pediocina encapsulada foram eficazes para inibição de todas as linhagens de *Listeria* testadas. Testes estão sendo feitos para avaliar a eficiência da encapsulação que são a medida do Espalhamento dinâmico de luz e o Potencial Zeta.

Agradecimentos: ao CNPq pela concessão de bolsas, a empresa Kerry pelo fornecimento da pediocina e ao laboratório de imunologia aplicada do centro de biotecnologia da UFPel.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHÃO, W. M.; ABRAHÃO, P.R.S.; MONTEIRO, C.L. B.; PONTAROLO, R. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in cheese and ice cream produced in the State of Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 44(2):289-296, 2008.

JOERGER, M. C., KLAENHAMMER, T. R. Cloning, expression and nucleotide sequence of the *Lactobacillus helveticus* 481 gene encoding the bacteriocin helveticin. **Journal of Bacteriology**, v 172, p. 6339-47, 1990.

MOTTA, A.S., BRANDELLI, A. Characterization of an antibacterial peptide produced by *Brevibacterium linens*. **Journal of Applied Microbiology**, Inglaterra, v. 92, p.63-71, 2002.

NASCIMENTO, M. S.; MORENO, L.; KUAYE, A, YOSHITERU. Bacteriocinas em alimentos: uma revisão. **Braz. J. Food Technol.**, v. 11, n. 2, p. 120-127, 2008. SCHULZ, D., PEREIRA, M, A., BONELLI, R, R., NUNES, M, M. BATISTA, C,V, R Bacteriocinas: Mecanismo de ação e uso na conservação de alimentos, **Alim. Nutri.**, Araraquara, v.14, n.2 , p. 229-235, 2003.