INIC 30 ANOS | XXX INIC Encontro Latino Americano de Iniciação Científica | XXVI EPG Encontro Latino Americano de Pós Graduação | XX INIC Jr. Encontro Latino Americano de Iniciação Científica Júnior | VI ENEXUN Encontro Nacional de Extensão Universitária | XVI INID Encontro de Iniciação à Docência

REDUÇÃO DE VIABILIDADE DE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE SALMONELLA COM USO DE EXTRATOS DE *TERMINALIA FAGIFOLIA*

Thianny Raquel Saldanha Bezerra [1], Michaevany Barbosa Barreto [1], Flávio Santos Lopes [2], Cláudia Vieira Prudêncio [1].

[1] Universidade do Oeste da Bahia, Centro das Ciências Biológicas e da Saúde, Rua da prainha, 1326, Morada Nobre - 47810-047 - Barreiras – BA, Brasil, michaevany.b0595@ufob.edu.br, thianny.b1734@ufob.edu.br, claudia.prudencio@ufob.edu.br

[2] Frutificar Cerrado, 47806-456, Barreiras - BA, Brasil, 1lopes.fs@gmail.com

Resumo

A resistência antimicrobiana e a contaminação por *Salmonella* representam importantes desafios à saúde pública, o que evidencia a necessidade de novas alternativas de controle microbiano, especialmente aquelas de origem natural como os extratos vegetais. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial antimicrobiano de extratos de folhas de *Terminalia fagifolia* contra células planctônicas e sésseis de *Salmonella enterica* Typhimurium. Foram avaliadas concentrações entre 0,019 e 10,000 mg/mL em caldo por meio da quantificação de células viáveis. Os extratos reduziram a viabilidade de células planctônicas em concentrações superiores a 2,5 mg/mL, com maior efeito com o uso de extrato aquoso. Não foi observada atividade contra células sésseis. Os resultados evidenciam a atividade antimicrobiana dos extratos, o que sugere seu potencial para controle de patógenos alimentares e destaca o Cerrado como uma importante fonte de compostos com propriedades antimicrobianas.

Palavras-chave: Mussambê. Alimentos. Resistência Microbiana. Micro-organismos. Conservantes.

Área do Conhecimento: Nutrição, Ciência e Tecnologia de Alimentos

Introdução

A resistência antimicrobiana consolida-se como uma das maiores ameaças à saúde pública global, tendo sido associada a mais de 4,7 milhões de mortes em todo o mundo apenas em 2021 (WHO, 2026). Esse cenário crítico é alimentado principalmente pelo uso indevido e excessivo de medicamentos antimicrobianos, fator que acelera o desenvolvimento e a disseminação de patógenos cada vez mais resistentes aos tratamentos convencionais (WHO, 2026). Segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS), os custos relacionados ao tratamento de infecções bacterianas resistentes poderão atingir aproximadamente US$412 bilhões por ano até 2035, evidenciando a urgência de estratégias eficazes para o controle desse problema (WHO, 2026). Além disso, os impactos decorrentes da redução da produtividade nos setores agrícola e de trabalho humano devem gerar um prejuízo de igual proporção no mesmo período (WHO, 2026).

Nessa perspectiva, o consumo de alimentos contaminados por agentes patogênicos constitui um risco cada vez maior para a saúde coletiva, e se caracteriza como um dos maiores meios de contaminação por enfermidades infecciosas no mundo (BATIHA *et al.*, 2021). Ao contextualizar essa problemática no cenário brasileiro, observa-se que as bactérias são responsáveis por aproximadamente nove em cada dez casos notificados de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs), com destaque para *Salmonella* (BRASIL,2019). Além disso, fármacos vitais de alta relevância clínica, a exemplo das fluoroquinolonas e dos carbapenêmicos, apresentam declínio progressivo na eficácia no combate a cepas de *Salmonella* (WHO,2025). Essa perda de sensibilidade aos carbapenêmicos, outrora incomum, tem sido registrada mais frequentemente, o que limita severamente as alternativas de tratamento e exige a prescrição de antimicrobianos de reserva estratégica (WHO, 2025). Contudo,

esses medicamentos de última escolha possuem elevado custo, complexidade de aquisição e restrição frequente de disponibilidade em nações de menor e média renda (WHO,2025).

Por outro lado, a formação de biofilmes constitui um importante mecanismo de persistência bacteriana e representa um desafio adicional para o controle de patógenos de interesse alimentar (Wang *et al*.,2021). *Salmonella* spp. apresenta capacidade de formar biofilmes em diferentes superfícies presentes em ambientes de processamento de alimentos, o que favorece sua sobrevivência e contribui para a persistência do patógeno e para a ocorrência de contaminação cruzada (Pang *et al*,2023). Durante esse processo, as células aderem às superfícies e desenvolvem comunidades bacterianas associadas a uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares, cuja formação é regulada por diferentes mecanismos celulares e moleculares (Wang *et al*., 2021). Essa organização pode dificultar a ação de agentes antimicrobianos e sanitizantes e tornar o controle de patógenos particularmente desafiador em ambientes de produção de alimentos (Pang *et al*., 2023; Wang *et al*., 2021). Dessa forma, a presença de células em estado séssil reforça a necessidade de estratégias capazes de atuar sobre essas populações (Pang *et al*., 2023). Diante da perda progressiva de eficácia dos antimicrobianos tradicionais, a comunidade científica tem voltado sua atenção para os compostos bioativos de origem natural, explorando-os como alternativas para uso terapêutico e na conservação de alimentos (Sulieman *et al.*, 2023). Nessa perspectiva, a busca por novos bioativos têm impulsionado o interesse científico para biomas diversos e pouco conhecidos, como o Cerrado brasileiro (Cruz *et al.*, 2022). Esse bioma é considerado como a savana mais rica em biodiversidade do planeta, o que favorece a prospecção de espécies promissoras (Brasil, 2024). O Cerrado abriga centenas de plantas de uso medicinal tradicional ao lado de um acervo botânico predominantemente desconhecido, o que o coloca como uma fonte estratégica para a identificação de princípios ativos contra patógenos (Belém *et al.*, 2021). Apesar das lacunas de conhecimento existentes, diversos estudos observaram que plantas do Cerrado apresentam atividade promissora, como as espécies do gênero *Terminalia (* Rodrigues;Bertolin, 2019; Das *et al.*, 2020; Belém *et al.*, 2021; Cruz *et al*., 2022*).* Amplamente distribuído pelas regiões tropicais do planeta, este gênero é reconhecido como uma fonte abundante de metabólitos secundários, que inclui triterpenóides pentacíclicos e seus derivados glicosilados, flavonoides, taninos e outros compostos aromáticos (Garcez *et al*., 2003; Katerere *et a*l., 2003). Nesta perspectiva, o objetivo deste estudo foi investigar o potencial antimicrobiano do extrato de *T. fagifolia (*Mussambê), planta nativa do Cerrado ainda pouco conhecida cientificamente, sobre a viabilidade de células planctônicas e sésseis de *Salmonella* Typhimurium.

Metodologia

Salmonella enterica sorotipo Typhimurium ATCC 14028 foi utilizada como microrganismo indicador. A cultura foi mantida a -20 °C em caldo Triptona de Soja (TSB) acrescido de glicerol. Antes de cada ensaio, cada cultura foi cultivada em caldo TSB a 35 ± 2 °C por 24 h. Após esse período, a cultura foi centrifugada a 2.500 × *g*, lavada e ressuspendida em salina 0,85%.

Para preparo dos extratos foram utilizadas folhas sadias. As partes vegetais foram secas em estufa a 40 °C por 48 h. Após a secagem, o material foi triturado e o pó obtido armazenado em recipiente escuro e hermeticamente fechado até o momento de preparo dos extratos (Pinho *et a*l., 2012). Para obtenção dos extratos, o material foi infusionado em etanol (99%) e posteriormente filtrado e concentrado por rotaevaporação, como sugerido por Pinho *et al*. (2012). A preparação dos extratos aquosos foi realizada conforme metodologia descrita por Cercato *et al.* (2016). Os extratos eram conservados ao abrigo de luz, sob baixa temperatura, e ressuspensos em água destilada ou solução de dimetilsulfóxido (DMSO) 1%, para os extratos aquosos e etanólicos, respectivamente.

Para os ensaios 10^5 UFC/mL da cultura foram adicionadas em caldo TSB, acrescido ou não de concentrações entre 0,019 e 10,000 mg/mL de extrato em microplacas de 24 poços. Cupons de poliestireno (10 x 10 x 1 mm) previamente higienizados e desinfetados foram utilizados como corpos de prova para adesão bacteriana. Antes de cada ensaio foi realizada a verificação da esterilidade dos materiais, a fim de garantir a ausência de contaminação. A amoxicilina, na concentração de 40 mg/mL, foi empregada como controle positivo, enquanto os solventes utilizados na preparação dos extratos foram utilizados como controles negativos (Ulusoy H, *et al*., 2021).

As microplacas foram incubadas a 35 °C por 24 horas,. Após a incubação, as alíquotas de cada poço foram coletadas, diluídas e plaqueadas pela técnica de microgotas em meio Ágar Padrão para Contagem (PCA) para a contagem de células viáveis. Após essa etapa, os cupons foram retirados e submetidos a três lavagens consecutivas, em ambos os lados, com solução salina 0,85% para remoção de células não aderidas. Em seguida, cada cupom foi transferido individualmente para tubos contendo 20 mL de solução salina 0,85%, que foram submetidos à sonicação (45 Hz) durante 30 minutos e agitação (3000 RPM) por 3 minutos para a recuperação das células aderidas à superfície. Por fim, as suspensões obtidas foram diluídas e plaqueadas como descrito anteriormente. As placas foram incubadas a 35 °C por 10 a 12 horas, antes de ser realizada a contagem das colônias. Os resultados referentes às células planctônicas foram expressos em UFC/mL, enquanto a população de células sésseis aderidas aos cupons foi expressa em UFC/cm².

Foram realizados em três repetições independentes e os dados analisados por meio de fatorial 2x2, sendo as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, considerando-se nível de significância de 5% ($p < 0,05$) no software AgroEstat, versão 1.1.0.712.

Foram utilizadas ferramentas de inteligência artificial como recursos auxiliares na elaboração deste trabalho. O Chat GPT (OpenAI), versão GPT-5.6 Luna, foi utilizado para correção ortográfica. O OpenEvidence, modelo Osler (2026), foi empregado como ferramenta auxiliar na busca e identificação de artigos científicos e evidências na literatura. As informações e referências obtidas por meio dessas ferramentas foram posteriormente conferidas nas fontes científicas originais, sendo a análise, interpretação e redação final de responsabilidade dos autores.

Resultados

Não foi observada interação entre os fatores avaliados, a saber tipo do extrato e concentrações(p=0,2181), sendo por isso apresentadas as médias conjuntas dos dois extratos. A adição de extratos aquosos e etanólicos reduziu a viabilidade de células planctônicas em concentrações superiores a 2,5 mg/mL, com maior eficiência com uso de extrato aquoso. Já contra células sésseis não foi observada redução de viabilidade independente de qual extrato tenha sido utilizado (Tabela 1).

Tabela 1- Viabilidade de células planctônicas e sésseis de *Salmonella Typhimurium* em caldo TSB a 35 °C acrescido de diferentes concentrações de extratos aquosos e etanólicos de folhas de *Terminalia fagifolia*

Doses de extrato	***Células Planctônicas (Média ± DP)***	***Células Sésseis (Média ± DP)***
10,00	8,15 ± 0,50 ^{c}	4,72 ± 0,45 ^{ab}
5,000	8,31 ± 0,0,26 ^{bc}	5,21 ± 0,29 ^{ab}
2,500	8,31 ± 0,22 ^{bc}	4,55 ± 0,31 ^{b}
1,250	8,54 ± 0,21 ^{abc}	5,15 ± 0,30 ^{ab}
0,625	8,68 ± 0,24 ^{ab}	4,59 ± 0,45 ^{b}
0,313	8,69 ± 0,24 ^{ab}	4,91 ± 0,32 ^{ab}
0,156	8,74 ± 0,18 ^{a}	4,74 ± 0,42 ^{ab}
0,078	8,63 ± 0,13 ^{ab}	4,92 ± 0,16 ^{ab}
0,039	8,68 ± 0,091 ^{ab}	4,74 ± 0,17 ^{ab}
0,020	8,69 ± 0,07 ^{ab}	4,88 ± 0,29 ^{ab}
Controle positivo	1,22 ± 0 ^{d}	2,22 ± 0 ^{c}
0	8,74 ± 0,17 ^{a}	5,31 ± 0,42 ^{a}

a-e Médias seguidas por uma mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 0,05. Fonte: elaborado pelos próprios autores.

Discussão

Salmonella spp. se destaca entre os principais agentes zoonóticos veiculados por alimentos, e representa um importante problema de saúde pública e animal (Papoula-Pereira *et al.*, 2025). Dados da OMS indicam que a infecção por esse patógeno é a causa subjacente de quase 90 milhões de casos

anuais de gastroenterites, que ocasionam cerca de 155 mil mortes por ano no mundo (WHO, 2018). Essa elevada relevância epidemiológica está relacionada à sua capacidade de adaptação, que envolve alterações de pH, pressão osmótica e estresse oxidativo, e favorece sua sobrevivência e persistência em diferentes ambientes adversas (Álvarez-Ordóñez *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2021).
A formação de biofilmes também constitui uma importante estratégia de adaptação, por proporcionar proteção às células e aumentar sua tolerância a condições adversas (Álvarez-Ordóñez *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2021; Pang *et al*., 2023). Por outro lado, a emergência de quadros de gastroenterite e sepse associados a cepas com perfil de resistência e multirresistência a classes convencionais de antibióticos, como beta-lactâmicos, quinolonas e aminoglicosídeos, se consolida como um problema de saúde pública global, em que *Salmonella* Typhimurium e suas variantes monofásicas exercem papel central (Galán-Relaño *et a*l., 2022). Dessa forma, torna-se fundamental ampliar a busca por estratégias alternativas e eficazes para o controle de microrganismos de importância para a saúde pública e a segurança dos alimentos, especialmente aqueles de origem natural (Elafify *et al*., 2025). Neste cenário, a diversidade vegetal do Cerrado representa uma importante fonte de compostos bioativos com potencial aplicação na área de segurança dos alimentos (De Jesus *et al.*, 2020). Nossos resultados evidenciam a redução da viabilidade de células planctônicas com o uso de concentrações superiores a 2,5 mg/mL dos extratos de *T. fagifolia*, com maior atividade observada para o extrato aquoso (Tabela 1). A atividade antimicrobiana do gênero *Terminalia* também foi demonstrada em outras espécies, como *Terminalia petiolaris* e *Terminalia catappa*, cujos extratos apresentaram atividade contra patógenos gastrointestinais, incluindo *Salmonella* spp., o que reforça o potencial desse gênero como fonte de compostos bioativos com ação antimicrobiana (Zai *et al.*, 2025).

Assim, embora diferentes espécies de *Terminalia* apresentem atividade antimicrobiana, a eficiência varia de acordo com a espécie, parte vegetal utilizada, composição química, solvente utilizado, concentração do extrato e micro-organismo alvo (Das *et al*., 2020). Essa influência do método de extração é particularmente importante, pois diferentes solventes podem favorecer a obtenção de classes distintas de metabólitos e, consequentemente, produzir respostas antimicrobianas diferentes (Das *et al.*, 2020).

Em geral, a maioria dos trabalhos apresenta avaliação da atividade antimicrobiana limitada à análise de CIM, sendo escassa a avaliação do efeito de extratos vegetais sobre células sésseis. Nossos dados demonstram que o uso dos extratos de *T. fagifolia* não afetaram a viabilidade de células sésseis de *Salmonella* Typhimurium, independente do tipo de extrato utilizado (Tabela 1). A maior resistência das células sésseis em comparação às células planctônicas pode estar associada à estrutura do biofilme, cuja matriz extracelular atua como uma barreira à penetração e à ação de agentes antimicrobianos, além de favorecer alterações fisiológicas que aumentam a tolerância das células bacterianas às condições adversas (Pang *et al.*, 2023)

Nossos resultados diferem daqueles descritos por Araújo *et al*. (2015), que observaram atividade antibacteriana e antibiofilme do extrato etanólico e de frações de *T. fagifolia* contra cepas de *Staphylococcus aureus*, com inibição da formação de biofilme superior a 80% para algumas cepas. Essa diferença pode estar relacionada à distinta sensibilidade dos microrganismos avaliados, uma vez que *Salmonella* apresenta diferentes perfis de suscetibilidade e resistência aos agentes antimicrobianos, incluindo cepas de *S. Typhimurium* com resistência a múltiplas classes de antibióticos (Galán-relaño *et al.*, 2022).

Conclusão

Os extratos de *T. fagifolia* reduziram a viabilidade de *células planctônicas* de *Salmonella Typhimurium*, com maior atividade nas concentrações mais elevadas. Não foi observada atividade contra células sésseis. Estes achados sugerem o potencial de *T. fagifolia* como fonte de compostos bioativos, sendo necessário novos estudos para identificar os compostos responsáveis pela atividade e compreender seus mecanismos de ação.

Referências

ÁLVAREZ-ORDÓÑEZ, A. *et al.* The acid tolerance response of *Salmonella* spp.: an adaptive strategy to survive in stressful environments prevailing in foods and the host. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 482–492, 2012. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.04.002.

ARAÚJO, A. R. *et al.* Antibacterial, antibiofilm and cytotoxic activities of *Terminalia fagifolia* Mart. extract and fractions. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 14, art. 25, 2015. DOI: 10.1186/s12941-015-0084-2.

BATIHA, G. E. *et al* . Antibiotic resistance in foodborne bacteria: mechanisms, health impact, and possible control strategies. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 18, n. 4, p. 200–222, 2021.

BELÉM, G. M. *et al* . Plantas do Cerrado com atividade antimicrobiana: uma revisão sistemática da literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 16, e07101622753, 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos – Brasil 2018. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2019.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente e Mudança do Clima. Cerrado. Brasília, DF, set. 2024. Disponível em: Ministério do Meio Ambiente – Cerrado.

CRUZ, J. E. R.; SALDANHA, H. C.; OLIVEIRA E FREITAS, G. R.; MORAIS, E. R. A review of medicinal plants used in the Brazilian Cerrado for the treatment of fungal and bacterial infections. **Journal of Herbal Medicine**, v. 31, art. 100523, 2022. DOI: 10.1016/j.hermed.2021.100523.

DAS, G. *et al* . Plants of the genus *Terminalia*: an insight on its biological potentials, pre-clinical and clinical studies. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, art. 561248, 2020. DOI: 10.3389/fphar.2020.561248.

DE JESUS, G. S. *et al.* Antimicrobial potential of essential oils from Cerrado plants against multidrug-resistant foodborne microorganisms. **Molecules**, v. 25, n. 14, art. 3296, 2020. DOI: 10.3390/molecules25143296.

ELAFIFY, M. *et al* . Phytochemicals as natural antimicrobials: a promising strategy for food safety and foodborne pathogens control. **Journal of Food Safety**, v. 45, n. 1, e70013, 2025. DOI: 10.1111/jfs.70013.

GALÁN-RELAÑO, A. *et al* . Phenotypic and genotypic antibiotic resistance patterns in *Salmonella Typhimurium* and its monophasic variant from pigs in southern Spain. **Research in Veterinary Science**, v. 152, p. 596–603, 2022. DOI: 10.1016/j.rvsc.2022.09.028.

GARCEZ, F. R. *et al* . Chemical constituents from *Terminalia fagifolia*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 3, p. 461–468, 2003.

KATERERE, D. R. *et al.* Antimicrobial activity of pentacyclic triterpenes isolated from *Terminalia* species. **Phytochemistry**, v. 63, n. 1, p. 81–88, 2003.

PANG, X. *et al.* Biofilm formation in food processing plants and novel control strategies to combat resistant biofilms: the case of *Salmonella* spp. **Food Science and Biotechnology**, v. 32, n. 12, p. 1703–1718, 2023. DOI: 10.1007/s10068-023-01349-3.

PAPOULA-PEREIRA, R. *et al.* Economic evidence for the control of *Salmonella* in animal-derived food systems: a scoping review. **Food Control**, v. 175, 111275, 2025. DOI: 10.1016/j.foodcont.2025.111275.

RODRIGUES, Patrícia Siqueira de Melo; BERTOLIN, Aparecido Osdimir. Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos etanólicos da casca e folhas de *Terminalia fagifolia* Mart. et Zucc (Combretaceae) frente às cepas de Staphylococcus aureus Rosenbach, 1884. **Revista de Biologia Neotropical / Journal of Neotropical Biology**, Goiânia, v. 16, n. 1, p. 42–49, 2019. DOI: 10.5216/rbn.v16i1.40954.

ULUSOY, Hatice; CEYLAN, Şule; PEKER, Hüseyin. Determination of antioxidant and antimicrobial activity of sweetgum (*Liquidambar orientalis*) leaf, a medicinal plant. **Polímeros**, v. 31, n. 2, 2021. DOI: 10.1590/0104-1428.04221

WANG, H. *et al.* Molecular regulation of biofilm formation of *Salmonella* spp.: a review. **Food Science**, v. 42, n. 13, p. 259–264, 2021. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-20200719-251.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Antimicrobial resistance**. Geneva: World Health Organization, 2026. Disponível em: World Health Organization – Antimicrobial resistance. Acesso em: 6 set. 2026.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Critically important antimicrobials for human medicine**. 6th revision. Geneva: World Health Organization, 2018.Acesso em: 6 set. 2026.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global research on antimicrobial resistance (GRAM) report 2023**. Geneva: World Health Organization, 2023.Acesso em: 6 set. 2026.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Salmonella (non-typhoidal)**. Geneva: World Health Organization, 2018.Acesso em: 6 set. 2026.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Warns of widespread resistance to common antibiotics worldwide**. Geneva: World Health Organization, 2025.Acesso em: 6 set. 2026.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Antimicrobial resistance**. Geneva: World Health Organization. Acesso em: 8 set. 2026.

ZAI, M. J. Y. *et al.* Antimicrobial activity of selected native Australian *Terminalia* spp. against gastrointestinal pathogens and potentiation of selected antibiotics. **Pharmacological Research – Natural Products**, v. 6, 100158, 2025. DOI: 10.1016/j.prenap.2025.100158.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB - RED 0007/2024), e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).