

Abanico Veterinario. Janeiro-Dezembro 2020; 10:1-13. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2020.26>  
Artigo Original. Recebido: 03/07/2020. Aceito: 19/10/2020. Publicado: 20/11/2020. Chave: 2020-53.

## **Caracterização química do extrato alcoólico de folha de goiaba (*Psidium guajava*) e seu efeito como inibidor da mobilidade de *Escherichia coli* O157: H7**

Chemical characterization of alcoholic extract of guava leaf (*Psidium guajava*) and its effect as a mobility inhibitor for *Escherichia coli* O157:H7

**Mónica Silva-Vega<sup>1\*</sup> ID, Rómulo Bañuelos-Valenzuela<sup>1\*\*</sup> ID, Lucía Delgadillo-Ruiz<sup>2</sup> ID, Perla Gallegos-Flores<sup>2</sup> ID, Carlos Meza-López<sup>1</sup> ID, Benjamín Valladares-Carranza<sup>3</sup> ID, Francisco Echavarría-Cháirez<sup>4</sup> ID**

<sup>1</sup>Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Zacatecas. <sup>2</sup>Unidad Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Zacatecas. Avenida preparatoria s/n colonia Hidráulica, CP. 98068, Zacatecas, Zacatecas, México. <sup>3</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México. <sup>4</sup>Instituto nacional de investigaciones forestales, agrícolas y pecuarias. Campo experimental Zacatecas, México. \*Autor responsável: Mónica Silva-Vega. \*\*Autor para correspondência: Rómulo Bañuelos-Valenzuela. Carretera Panamericana Fresnillo-Zacatecas s/n, Centro, CP. 98500 Víctor Rosales, Zacatecas, México. msilva58@hotmail.com, apozolero@hotmail.com, delgadillolucia@gmail.com, perla\_gf17@hotmail.com, carmezlop@yahoo.com.mx, benvac2004@yahoo.com.mx, fechava1@yahoo.com

### **RESUMO**

O objetivo foi caracterizar e determinar o efeito inibidor da mobilidade em *Escherichia coli* O157: H7 de extratos de folhas de goiaba (*Psidium guajava*). Novas alternativas de "extratos vegetais" de origem natural têm sido buscadas para eliminar a colonização de bactérias patogênicas em animais e prevenir a contaminação da carne. O extrato da folha de goiaba (*Psidium guajava*) possui atividade antibacteriana de amplo espectro, devido ao ingrediente ativo quercetina. *E. coli* O157: H7 enterohemorrágica é um patógeno de importância para a saúde pública, que pode causar a síndrome hemolítica urêmica, além disso, os ruminantes são reconhecidos como o principal hospedeiro de *E. coli* O157: H7. O extrato foi preparado com folhas de goiaba em etanol 70%, obtendo-se um extrato bruto (Extrato A) e um concentrado pelo equipamento soxhlet (Extrato B). A composição química foi determinada por cromatografia gasosa. Ruminantes lactantes com síndrome diarreica foram amostrados, as amostras foram transportadas em meio Stuart. As bactérias foram isoladas em meio Mac Conkey e subsequentemente semeadas em meio CHROMagar™ O157 para a identificação de *E. coli* O157: H7. Ensaios de mobilidade de *E. coli* O157: H7 foram realizados em meio SIM, com extrato de folha de goiaba e concentrações de carvacrol de 0,3, 1 e 5 mM e quercetina 205, 102 e 51 mM como referência. Foram identificados 78 *E. coli* O157: H7, que apresentou inibição na mobilidade em diferentes concentrações de carvacrol, 205 mM e 102,5 mM na quercetina e nos extratos A e B. Conclui-se que o extrato alcoólico de folhas de goiaba e seus compostos em maior proporção (quercetina) são eficazes na inibição da mobilidade de *E. coli* O157 H7.

**Palavras-chave:** Extratos, carvacrol, quercetina, inibição.

## ABSTRACT

The objective was to characterize and determine the mobility inhibitory effect in *Escherichia coli* O157: H7 of extracts of guava leaves (*Psidium guajava*). New alternatives of natural origin "plant extracts" have been sought to eliminate colonization of pathogenic bacteria in animals and prevent contamination of meat. Guava leaf extract (*Psidium guajava*) has broad-spectrum antibacterial activity, due to the active ingredient quercetin. *E. coli* O157: H7 enterohemorrhagic, is a pathogen of great importance in public health, which can cause hemolytic uremic syndrome, and ruminants are recognized as the main host of *E. coli* O157: H7. The extract was prepared with guava leaves in 70% ethanol, obtaining a crude extract (Extract A) and a concentrated extract using the soxhlet equipment (Extract B). Its chemical composition was determined by gas chromatography. Nursing ruminants with diarrheal syndrome were sampled, the samples were transported in Stuart medium. The bacteria were isolated in Mac Conkey medium and subsequently seeded in CHROMagar™ 0157 medium for the identification of *E. coli* O157:H7. Mobility tests of *E. coli* O157: H7 were carried out in SIM medium, with guava leaf extract and as a reference, concentrations of carvacrol of 0.3, 1 and 5 mM and quercetin 205, 102 and 51 mM were used. 78 *E. coli* O157: H7 were identified, which showed inhibition in mobility at different concentrations of carvacrol, in quercetin 205 mM and 102.5 mM and in extracts A and B. It is concluded that the alcoholic extract of guava leaves and its compound in a greater proportion (quercetin) they are effective in inhibiting the mobility of *E. coli* O157 H7.

**Keywords:** Extracts, carvacrol, quercetin, inhibition.

## INTRODUÇÃO

*Escherichia coli* O157, é um importante patógeno em saúde pública, podendo produzir toxina Shiga (STEC) (Kaper *et al.*, 2004). Os produtos STEC são transmitidos através dos alimentos, especialmente o serótipo O157: H7. As doenças causadas ao homem pelo sorotipo que produz STEC variam de diarréia leve a colite hemorrágica e síndrome hemolítico-urêmica (SHU), que geralmente afeta crianças, idosos e pacientes imunocomprometidos (Rodríguez-Angeles, 2002). A patogenicidade do STEC reside em diferentes fatores de virulência, incluindo toxinas Shiga (Stx1 e Stx2), intimina, enterohemolisina e a adesina STEC auto-ligante (AEA) (Gyles, 2007).

Foi relatado que ruminantes domésticos como vacas, ovelhas e cabras são portadores assintomáticos, que podem carregar STEC e *E. coli* O157: H7 em suas fezes, razão pela qual são considerados reservatórios naturais desses patógenos (Blanco *et al.*, 2004; Milton *et al.*, 2018; Iweriebor *et al.*, 2015; Bolukaoto *et al.*, 2019). Para eliminar a colonização de bactérias patogênicas em animais e prevenir a contaminação da carne, há uma variedade de agentes químicos antimicrobianos que estão disponíveis para a terapêutica em animais. No entanto, pesquisadores de nutrição animal relataram que com o aumento do uso de agentes antimicrobianos em animais e humanos, a prevalência de cepas resistentes aumentou (Cattoir e Leclercq, 2017; Kim *et al.*, 2019). Os genes das  $\beta$ -lactamases CTX-M foram relatados em *E. coli*, de gado para fins alimentares em todo o mundo; levantando uma potencial ameaça à saúde pública (Wittum *et al.*, 2010; Botelho *et al.*, 2015; Vitas *et al.*, 2018).

A partir do aumento de cepas resistentes a antibióticos, novas alternativas de origem natural têm sido buscadas, como extratos vegetais; por exemplo, o extrato de folha de goiaba (*Psidium guajava*), que possui atividade antibacteriana de amplo espectro

(Martínez *et al.*, 1997; Bermúdez-Vásquez *et al.*, 2019). Rattanachaikunsopon e Phumkhachorn (2010), relatam que o extrato aquoso de folha de goiaba apresentou atividade antibacteriana em 35% dos casos, o alcoólico em 65% e a cetona em 100%, contra bactérias patogênicas; incluindo *Bacillus stearothermophilus*, *Brochothrix thermosphacta*, *E. coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus* e *Vibrio cholerae*.

O extrato aquoso de folhas de goiaba reduz a produção de toxinas lábeis de *E. coli* e cólera (Birdi *et al.*, 2010). Echemendía e Morón (2004) em seu ensaio clínico concluíram que a tintura a 20% da folha de *Psidium guajava* tem um efeito antidiarréico e Lozoya *et al.* (2002) avaliaram a poeira das folhas secas, verificando esse efeito.

Vários compostos químicos foram isolados do extrato da folha de goiaba, tais como: triterpenóide pentacíclico, ácido guajanólico; bem como  $\beta$ -sitosterol, uvaol, ácido oleanólico e ácido ursólico e quercetina (Biswas *et al.*, 2013), para verificar o efeito antibacteriano das folhas de goiaba. Portanto, o objetivo deste trabalho foi a caracterização e determinação do efeito inibitório da mobilidade em *E. coli* O157: H7, de extratos de folhas de goiaba (*Psidium guajava*).

## MATERIAL E MÉTODOS

### **Obtenção do extrato alcoólico das folhas de *Psidium guajava***

Para cada extrato, etanol 70% J.T. Baker, na proporção de 25 gramas de amostra moída para cada 200 mL de solvente. A mistura foi colocada e selada em frascos âmbar dum litro, foi vigorosamente homogeneizada por 10 min; o extrato foi deixado em repouso por um mês em temperatura ambiente. O sobrenadante foi passado por papel de filtro (Whatman nº 2), para retirada dos restos de poeira vegetal (Pesewu *et al.*, 2008). Parte do extrato preparado foi utilizada para concentrá-lo, utilizando o equipamento soxhlet por uma hora, recuperando metade do volume inicial, chamando-o de Extrato B. O extrato A foi denominado o extrato mais diluído, ou como foi obtido após filtração.

### **Composição química de extratos de folhas de goiaba por cromatografia gasosa**

A composição química foi determinada em cromatógrafo gasoso (GC; Agilent Technologies série 6890N fabricado nos EUA), com coluna polar DB\_WAXetr, a 250 °C e 12,13 psi com fluxo de He de 36,5 mL min<sup>-1</sup> após a injeção. As condições da coluna foram: temperatura inicial 50 °C, de zero a dois min, aumentando de 10 a 10 °C até atingir 250 °C, mantendo a temperatura constante por 5 min, e depois descendo para 50 °C por dois min com um fluxo de He de 1,6 mL min<sup>-1</sup> a uma pressão de 12,13 psi e uma velocidade média de 25 cm s<sup>-1</sup>, usando um detector de chama ionizante (FID) a uma temperatura de 210 °C, com um fluxo de H<sub>2</sub> de 40 mL min<sup>-1</sup> e um fluxo de ar de 450 mL min<sup>-1</sup>. Os padrões de carvacrol e timol (Sigma-Aldrich) (Bañuelos-Valenzuela *et al.*, 2018) foram usados para a execução das amostras no cromatógrafo.

### **Determinação da dose hemolítica mínima dos extratos**

10 mL de sangue foram coletados num tubo heparinizado; o tubo com o sangue não coagulado foi centrifugado a 2500 rpm x 10 min a 10 °C, a fração de soro foi removida com uma pipeta; posteriormente, três lavagens foram realizadas com um regulador de lavagem [PBS 50% (v/v) e glicose 2,25% (p/v)] (López *et al.*, 2017); em seguida, foi centrifugado em cada lavagem a 2500 rpm x 10 min a 10 °C. O pacote de eritrócitos foi recuperado e ressuspensão a uma concentração de 0,1% (v/v) com um regulador de suspensão, consistindo em PBS a 50% (v/v), glicose a 2,25% (p/v) e gelatina a 0,05% (p/v). O ensaio foi realizado em triplicado em placas de 96 poços de fundo em U; 100 µL da suspensão de eritrócitos a 1% foram misturados com 100 µL da suspensão de cada extrato e com diluições de 1:10, 1: 100 e 1: 1000.

O controle negativo foi inoculado apenas 100 µL. Esse mesmo procedimento foi realizado para cada princípio ativo em suas diferentes concentrações (carvacrol, timol e quercetina), a partir da suspensão de eritrócitos a 1%. Para o controle positivo, 100 µL da suspensão de eritrócitos a 1% foram misturados com 100 µL de Triton X 1%; Mudanças na suspensão dos eritrócitos foram observadas a cada hora, até 24 horas. Com base nos controles positivo e negativo, foi determinado se havia atividade hemolítica do extrato sobre os eritrócitos.

Para a corrida das amostras no cromatógrafo, foram utilizados os padrões de carvacrol e timol, da marca SIGMA grau reagente. O extrato da folha de goiaba (40 mg/mL) foi concentrado por fervura (Ext A).

### **Identificação de bactérias em meio cromogênico CHROMagar™**

Exsudados retais foram obtidos de ruminantes lactantes, com presença de síndrome diarreica, menores de 21 dias de idade e com garantia de ingestão de colostro. As amostras foram coletadas por via retal com swab estéril, rotuladas e transportadas em meio Stuart® fabricado na Cidade do México; cada amostra foi semeado na placa de Petri com ágar MacConkey. Foi retirada uma colônia para dar continuidade à identificação, que foi realizada por estratificação em meio cromogênico CHROMagar™ O: 157, para *E. coli* O: 157: H7 (Moyne *et al.*, 2011). Em seguida, selecionaram 78 cepas bacterianas de fezes de ruminantes em lactação com síndrome diarreica menor de três meses, identificadas como *E. coli* O157: H7 em CHROMagar™ que apresentavam coloração rosa malva, devido aos substratos cromogênicos do meio; permitindo assim a identificação presuntiva da placa de isolamento primária e a diferenciação de outros organismos (Hirvonen *et al.*, 2012; Lara *et al.*, 2019).

### **Preparação de meio SIM em tubo com extrato**

O meio SIM foi preparado para cada tipo de padrão e extrato. Para o preparo do meio SIM, foram pesados 30 g de ágar para cada litro de água destilada; o ágar foi esterilizado em autoclave a 121 °C por 15 min. O ágar foi deixado resfriar a uma temperatura de aproximadamente 35 °C, para adicionar o extrato e o padrão correspondente; posteriormente, 4 mL da mistura anterior foram adicionados em tubos estéreis de 10 mL. Para cada bactéria, uma série de tubos foi feita em triplicata, conforme descrito abaixo: Controle (sem extrato), Carvacrol (C 0,3 mM, C 1 mM e C 5 mM), Ext A (extrato de goiaba diluído), Ext B (extrato de goiaba concentrado), Q 205 (quercetina 205 mM), Q 102 (quercetina 102 mM), Q 51 (quercetina 51,25 mM) e OH (controle de álcool).

### **Testes de mobilidade bacteriana**

Cada uma das bactérias identificadas pelo CHROMagar™ O: 157, foi semeada em ágar base por estrias, com o objetivo de se obter uma única colônia isolada para posteriormente realizar a semeadura em tubete. A semeadura no tubo foi realizada por picada, que consiste em pegar uma colônia isolada de bactérias e fazer uma picada em meio SIM, atravessando o ágar até o fundo do tubo; o meio foi preparado com os extratos, padrões e controle. Terminada a semeadura por picada, todas as amostras permaneceram à temperatura de 37 °C, em incubadora Thermo® por um período de 24 horas.

As condições de semeadura foram feitas com a devida esterilidade para evitar contaminação; Estas foram realizadas em capela de fluxo laminar (Lab tech®). A mobilidade bacteriana foi medida, usando um método qualitativo; a) motilidade positiva (+): presença de turbidez difusa ou total no meio. b) motilidade negativa (-): ausência ou presença discreta de crescimento, apenas no local da picada.

### **Análise estatística**

A análise estatística realizada foi nas tabelas de contingência de dimensão 2x2, entre as variáveis extrato A e extrato B vs carvacrol 0,3 mM, carvacrol 1 mM, carvacrol 5 mM, quercetina 205 mM, quercetina 102 mM e quercetina 51 mM. Os critérios utilizados foram os testes de independência  $\chi^2$  (teste do qui-quadrado), considerando nível de significância de  $p < 0,05$  e intervalo de confiança de 95% (Good, 2000). Os dados foram coletados no Excel e analisados no Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versão 17.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A Tabela 1 mostra a presença dos princípios ativos carvacrol e timol nos extratos alcoólicos de folhas de goiaba, bem como sua concentração por cromatografia gasosa.

Tabela 1. Resultados de cromatografia gasosa expressos em unidades de concentração mg / mL

Extrato de folha de goiaba	Carvacrol	Timol
Extrato A	3.0869	1.5130
Extrato B	0	0.3525

Ambos os princípios ativos (carvacrol e timol) estavam presentes no extrato A; enquanto o extrato B, apenas timol foi identificado. O princípio ativo com maior concentração nos extratos foi o carvacrol com 3,0869 mg/mL no extrato A. As plantas medicinais são comumente ricas em terpenos (carvacrol, citral, linalol e geraniol) e compostos fenólicos, compostos eficazes como aditivos alimentares (Nile *et al.*, 2017).

O principal modo de ação antibacteriana do timol não é totalmente compreendido, mas acredita-se que envolva a ruptura da membrana externa e interna e a interação com proteínas de membrana e alvos intracelulares. Estudos de Wang e Yam (2018) demonstraram que o timol interage com as membranas celulares e essas interações afetam a permeabilidade da membrana bacteriana. Para o efeito hemolítico e com base nos controles positivo e negativo, foi determinado se havia atividade hemolítica dos extratos de folhas de goiaba e dos princípios ativos sobre os eritrócitos. Na tabela 2 observou-se que para o carvacrol na concentração de 0,3 mM não ocorreu hemólise, nos extratos A e B ocorre apenas hemólise até a diluição 1:10. Por fim, para a quercetina, a concentração mínima de hemólise foi na diluição 1:10 de suas três concentrações. Conforme mencionado por López *et al.* (2017) o termo hemólise refere-se ao processo de destruição dos eritrócitos, que gera a liberação de componentes intraeritrocíticos; portanto, o teste de hemólise é utilizado para conhecer o efeito sobre a célula eritrocitária ao confrontá-la com os extratos em diferentes concentrações, que é o que se pretendia com este experimento. A inibição da hemólise se deve aos componentes bioativos, como flavonóides e compostos fenólicos presentes nos extratos de goiaba.

Os eritrócitos podem mudar sua forma normal para equinócitos ou estomatócitos, o que depende de fatores citoplasmáticos, incluindo o pH (Gedde *et al.*, 1997). As altas concentrações de flavonóides encontrados em frutas como manga (García Bacallao *et al.*, 2001), folhas de goiaba (Rodríguez *et al.*, 2013) e flavonóides obtidos do maqui (*Aristotelia chilensis*) com propriedades antioxidantes, são indutores de equinócitos (Gironés-Vilaplana *et al.*, 2012; Durán *et al.*, 2013).



**Tabela 2. Atividade hemolítica de extratos de folhas de goiaba**

Diluição da amostra	Solução de estoque	1:10	1:100	1:1000
C 0.3 mM	+	-	-	-
C 1 mM	+	+	-	-
C 5 mM	+	+	+	-
EXT A	+	+	-	-
EXT B	+	+	-	-
Q 205 mM	+	+	-	-
Q 102 mM	+	+	-	-
Q 51 mM	+	+	-	-

(+) presença de hemólise; (-) ausência de hemólise

Com o uso do CHROMagar™, foi identificada *E. coli* O: 157 H7, diferindo pela cor da colônia no meio, que apresenta uma coloração rosa malva (Lara *et al.*, 2019). Este meio foi inicialmente usado na indústria de alimentos para a rápida liberação de alimentos livres de patógenos, mas atualmente está aprovado para a análise de amostras clínicas e tem sido usado em vários estudos (Bettelheim, 1998; Tang *et al.*, 2014; Gutierrez *et al.*, 2016; Parsons *et al.*, 2016). 78 cepas de *E. coli* O157: H7 foram identificadas por CHROMagar™ seletivo, e essas bactérias foram inoculadas em meio SIM.

Os resultados da 2 *in vitro* dos extratos de folhas de goiaba e dos padrões (ingredientes ativos da folha de goiaba) sobre a bactéria são observados na tabela 3. Este efeito foi avaliado qualitativamente pela presença ou ausência de turbidez na planta. Tubo. Os resultados mostraram que os padrões de carvacrol possuem ampla atividade antibacteriana, contra 65 microrganismos; inibir o crescimento bacteriano em 56 bactérias a uma concentração de 5 mM (tabela 3); em relação ao extrato A de goiaba que apresentou efeito na inibição da mobilidade de 62 bactérias; enquanto o extrato B inibe 46 bactérias. A quercetina na concentração de 51 mM, apresentou a maior inibição de mobilidade em 60 bactérias.

**Tabela 3. Resultados totais de mobilidade bacteriana**

	C 5 mM	C 1 mM	C 0.3 mM	EXT A	EXT B	Q 205	Q 102	Q 51	OH
+	56	60	65	62	46	59	51	60	0
-	22	18	13	16	32	19	27	18	78

(+): Presença de turvação difusa ou total no meio. (-): Ausência ou presença discreta de crescimento.

Gallegos- Flores *et al.* (2019) relataram que o carvacrol na concentração de 0,3 mM diminui a mobilidade da cepa determinada com a técnica de Western Blot, onde observaram uma diminuição na síntese da flagelina; essa proteína é encontrada em 8% da proteína celular total. Esses resultados diferem dos relatados na tabela 2, principalmente devido ao fato de que a concentração de 0,3 mM não inibiu a mobilidade em 100% da bactéria *E. coli* O157: H7.

Do ponto de vista de Gallegos- Flores *et al.* (2019), células de *E. coli* crescem na presença de carvacrol a uma concentração de 5 mM sem síntese de flagelos, fazendo com que o microrganismo cresça sem mobilidade; ou seja, quando a célula bacteriana é submetida ao estresse causado por substâncias tóxicas e sua sobrevivência está em risco; que é capaz de suprimir a produção da proteína flagelina e conservar energia para outras funções celulares, o que pode, portanto, ser uma tática de sobrevivência; no entanto, a uma concentração superior a 5 mM, a bactéria cessa imediatamente a mobilidade e ocorre a morte celular; observando que a concentração de 5 mM é a que apresenta o maior número de bactérias que inibem o crescimento.

A interação carvacrol-quercetina, presente no extrato A das folhas de goiaba, apresenta maior inibição na mobilidade das bactérias, desde que as concentrações de carvacrol e quercetina sejam as indicadas acima (Tabela 4). Ambos os casos são significativos, mas distingue-se uma maior magnitude de comparação do extrato A com o carvacrol e a quercetina, devido aos compostos químicos presentes. Magnitude menor do qui quadrado representa maior similaridade com o extrato; portanto, o extrato B representa mais semelhante ao padrão de quercetina, mas não tem o efeito inibidor.

**Tabela 4. Eficiência dos extratos**

Concentração	Extrato A				Extrato B					
	$\chi^2$	z	p	$\chi^2$	z	p				
Carvacrol (mM)	0.3	+	127	81.41	7.84	0.0001	111	71.15	5.28	0.0001
		-	29	18.59			45	28.85		
	1	+	122	78.21	7.04	0.0001	106	67.95	4.48	0.0001
		-	34	21.79			50	32.05		
5	+	118	75.64	6.4	0.0001	102	65.38	3.84	0.0001	
	-	38	24.36			54	34.62			
Quercetina (mM)	205	+	121	77.56	6.88	0.0001	105	67.31	4.32	0.0001
		-	35	22.44			51	32.69		
	102.5	+	113	72.44	5.6	0.0001	97	62.18	3.04	0.0023
		-	43	27.56			59	37.82		
51.25	+	122	78.21	7.04	0.0001	106	67.95	4.48	0.0001	
	-	34	21.79			50	32.05			

$\chi^2$ : valor qui-quadrado calculado: valor de ji cuadrada calculada.

O carvacrol danifica a membrana externa de bactérias gram-negativas e aumenta a permeabilidade da membrana citoplasmática, causando perdas de ATP, vazamento de íons e lise celular (Meira *et al.*, 2017). O fato de bactérias gram-negativas flageladas na presença de carvacrol não desenvolverem flagelos poderia ter implicações para o uso desse composto como aditivo antibacteriano para produtos alimentícios e/ou para a geração de novos antibióticos; já que, se a célula bacteriana não apresentar flagelos, isso diminui ou inibe seu mecanismo de patogenicidade, pois é menos capaz de aderir às células epiteliais do hospedeiro.



Por fim, o efeito da quercetina sobre *E. coli* O157: H7 na concentração de 102 mM, mostra-se ótimo na mobilidade das bactérias, tendo o mesmo efeito na interação quercetina-extrato B. Isso pode ser atribuído ao fato de que o principal composto ativo nas folhas de goiaba é o flavonóide quercetina, ao qual é atribuído um efeito antibacteriano (Echemendía e Morón, 2004).

## CONCLUSÃO

Conclui-se que o extrato A da folha de goiaba e seu composto em maior proporção (quercetina) são eficazes na inibição da mobilidade de *E. coli* O157: H7; portanto, torna-se uma alternativa de origem natural para o tratamento da síndrome diarreica em ruminantes.

## LITERATURA CITADA

BAÑUELOS-VALENZUELA R, Delgadillo-Ruiz L, Echavarría-Cháirez F, Delgadillo-Ruiz O, Meza-López C. 2018. Composición química y FTIR de extractos etanólicos de *Larrea tridentata*, *Origanum vulgare*, *Artemisa ludoviciana* y *Ruta graveolens*. *Agrociencia*. 52(3): 309-321. <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v52n3/2521-9766-agro-52-03-309.pdf>

BETTELHEIM KA. 1998. Reliability of CHROMagar® O157 for the Detection of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O157 but Not EHEC Belonging to Other Serogroups. *Journal of Applied Microbiology*. 85:425-428. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1998.853469.x>

BERMÚDEZ-VÁSQUEZ MJ, Granados-Chinchilla F, Molina A. 2019. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Psidium guajava* and *Cymbopogon citratus*. *Agronomía Mesoamericana*. 30(1): 147-163. <http://dx.doi.org/10.15517/am.v30i1.33758>

BISWAS B, Rogers K, McLaughlin F, Daniels D, Yadav A. 2013. Antimicrobial activities of leaf extracts of guava (*Psidium guajava* L.) on two gram-negative and gram-positive bacteria. *International journal of microbiology*. 2013: 1-7. <https://doi.org/10.1155/2013/746165>

BIRDI T, Daswani P, Brijesh S, Tetali P and Natu A. 2010. Newer insights into the mechanism of action of *Psidium guajava* L. leaves in infectious diarrhoea. *BMC complementary and alternative medicine*. 10(1): 33. <https://link.springer.com/article/10.1186/1472-6882-10-33>

BLANCO M, Padola NL, Krüger A, Sanz ME, Blanco JE, González EA, Dahbi G, Mora A, Bernárdez MI, Etcheverría AI, Arroyo GH, Lucchesi PMA, Parma AE, Blanco J. 2004. Virulence genes and intimin types of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle and beef products in Argentina. *Int Microbiol.* 7:269–76. <http://revistes.iec.cat/index.php/IM/article/view/9482>

BOLUKAOT JY, Kock MM, Strydom KA, Mbelle NM and Ehlers MM. 2019. Molecular characteristics and genotypic diversity of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 isolates in Gauteng region, South Africa. *Science of the Total Environment.* 692: 297-304. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.119>

BOTELHO LAB, Kraychete GB, e Silva C, Lapa J, Regis DVV, Picão RC and Bonelli RR. 2015. Widespread distribution of CTX-M and plasmid-mediated AmpC  $\beta$ -lactamases in *Escherichia coli* from Brazilian chicken meat. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 110(2): 249-254. <https://doi.org/10.1590/0074-02760140389>

CATTOIR V, Leclercq R. 2017. Resistance to Macrolides, Lincosamides, and Streptogramins. *Antimicrobial Drug Resistance* (pg 269-280). Springer, Cham. [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-46718-4\\_18](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-46718-4_18)

DURÁN M, Montero P, Marrugo Y. 2013. Extractos metanólicos de corteza de guayaba (*Psidium guajava* L.) y mango (*Mangifera indica* L.): efecto citotóxico, antihemolítico y en la morfología de membrana de eritrocitos. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica.* 16(2):327-334. <https://repository.udca.edu.co/handle/11158/1744>

ECHEMENDÍA SCE, Morón RFJ. 2004. Tintura de hojas de *Psidium guajava* L. enpacientes con diarrea aguda simple. *Rev Cubana Plant Med.* 9(3): 1-13. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962004000300008](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962004000300008)

GALLEGOS-FLORES PI, Bañuelos-Valenzuela R, Delgadillo-Ruiz L, Meza-López C y Echavarría-Cháirez F. 2019. Actividad antibacteriana de cinco compuestos terpenoides: carvacrol, limoneno, linalool,  $\alpha$ -terpineno y timol. *Tropical and Subtropical Agroecosystems.* 22:241-248. <https://pdfs.semanticscholar.org/c11b/a9ad9c764c58baaded8d9a5eded06c7c1513.pdf>

GARCÍA BL, García GVL, Rojo DM, Sánchez GE. 2001. Plantas con propiedades antioxidantes. *Revista cubana de investigaciones biomédicas.* 20(3):231-235. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03002001000300011](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002001000300011)

GEDDE MM, Davis DK, Huestis WH. 1997. Cytoplasmic pH and human erythrocyte shape. *Biophysical journal*. 72(3):1234-1246. [https://www.cell.com/biophysj/pdf/S0006-3495\(97\)78770-8.pdf](https://www.cell.com/biophysj/pdf/S0006-3495(97)78770-8.pdf)

GIRONÉS-VILAPLANA A, Mena P, García-Viguera C, Moreno DA. 2012. A novel beverage rich in antioxidant phenolics: Maqui berry (*Aristotelia chilensis*) and lemon juice. *LWT - Food Science and Technology*. 47(2): 279-286. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.01.020>

GOOD P. 2000. Permutation tests. A practical guide to resampling methods for testing hypotheses. Second edition. *Springer-Verlag, New York*. Pp. 270. <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-3235-1>

GUTIERREZ ME, Janes ME, Torrico DD, Carabante KM, Prinyawiwatkul W. 2016. Assessment of the ability of five culture media for the detection of *Escherichia coli* O157. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(8), 1910-1915. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13164>

GYLES CL. 2007. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *Journal of Animal Science*. 85: 45–62. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-508>

IWERIEBOR BC, Iwu CJ, Obi LC, Nwodo UU, Okoh AI 2015. Multiple antibiotic resistances among Shiga toxin producing *Escherichia coli* O157 in feces of dairy cattle farms in Eastern Cape of South Africa. *BMC microbiology*. 15(1):213. <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-015-0553-y>

HIRVONEN JJ, Siitonen A, Kaukoranta SS. 2012. Usability and performance of CHROMagar STEC in detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains. *J Clin Microbiol*. 50:3586-3590. <https://doi.org/10.1128/JCM.01754-12>

KAPER JB, Nataro JP, Mobley HLT. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*. 2:123–40. <https://www.nature.com/articles/nrmicro818>

KIM YB, Seo KW, Shim JB, Son SH, Noh EB, Lee Y J. 2019. Molecular characterization of antimicrobial-resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolated from layer parent stock. *Poultry science*. 98(11):5892-5899. <https://doi.org/10.3382/ps/pez288>

LARA DJA, Silva VM, Bañuelos VR, Delgadillo RL, Delgadillo RO. 2019. Incidencia de *Escherichia coli* O157: H7 en heces de rumiantes lactantes con síndrome diarreico. *Revista MVZ Córdoba*. 24(3): 7339-7345. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1232>

LÓPEZ MA, Valbuena-Gregorio E, Quihui-Cota L, Morales-Figueroa GG, Ruiz-Cruz S, Campos-García JC, Díaz-Meza E, Pablos-Rodríguez DE. 2017. Efecto de Microemulsiones de Aceites Esenciales Sobre el Eritrocito Humano y Bacterias Patógenas. *Revista mexicana de ingeniería biomédica*. 38(1):247-254. <http://www.rmib.mx/index.php/rmib/article/view/27>

LOZOYA X, Reyes MH, Chávez MA., Martínez GMC, Soto GY and Doubova SV. 2002. Intestinal anti-spasmodic effect of a phytodrug of *Psidium guajava* folia in the treatment of acute diarrheic disease. *Journal of Ethnopharmacology*. 83(1-2): 19-24. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00185-X](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00185-X)

MARTÍNEZ MJ, Molina N, Boucourt E. 1997. Evaluación de la actividad antimicrobiana de *Psidium guajava* L. (guayaba). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2(1): 12-14. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47961997000100003&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47961997000100003&script=sci_arttext&tlng=en)

MEIRA NV, Holley RA, Bordin K, de Macedo RE, Luciano FB. 2017. Combination of essential oil compounds and phenolic acids against *Escherichia coli* O157: H7 in vitro and in dry-fermented sausage production. *International journal of food microbiology*. 260:59-64. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.08.010>

MILTON AAP, Agarwal RK, Priya GB, Aravind M, Athira CK, Rose L, Saminathan M, Sharma AK, Kumar A. 2018. Captive wildlife from India as carriers of Shiga toxin-producing, Enteropathogenic and Enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Journal of Veterinary Medical Science*. 81(2): 321-327. <https://doi.org/10.1292/jvms.18-0488>

MOYNE AL, Sudarshana MR, Blessington T, Koike ST, Cahn MD, Harris LJ. 2011. Fate of *Escherichia coli* O157: H7 in field-inoculated lettuce. *Food Microbiology*. 28(8): 1417-1425. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.02.001>

NILE SH, Nile AS, Keum YS. 2017. Total phenolics, antioxidant, antitumor, and enzyme inhibitory activity of Indian medicinal and aromatic plants extracted with different extraction methods. *3 Biotech*. 7(1): 1-10. <https://link.springer.com/article/10.1007/s13205-017-0706-9>

PARSONS BD, Zelyas N, Berenger BM, Chui L. 2016. Detection, characterization, and typing of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Frontiers in microbiology*. 7: 1-12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00478>

PESEWU GA, Cutler RR, Humber DP. 2008. Antibacterial activity of plants used in traditional medicines of Ghana with particular reference to MRSA. *Journal of ethnopharmacology*. 116(1): 102-111. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.11.005>

RATTANACHAIKUNSOPON P, Phumkhachorn P. 2010. Contents and antibacterial activity of flavonoids extracted from leaves of *Psidium guajava*. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4(5): 393-396. <https://doi.org/10.5897/JMPR09.485>

RODRÍGUEZ-ANGELES G. 2002. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud pública de México*. 44: 464-475. <http://www.insp.mx/salud/index.html>

RODRÍGUEZ RA, Lafourcade PA, Pérez RL. 2013. Hojas de *Psidium guajava* L. *Revista Cubana de Farmacia*. 47(1): 127-135. [https://www.researchgate.net/profile/Jesus\\_Rafael\\_Rodriguez\\_Amado/publication/260774883\\_Hojas\\_de\\_Psidium\\_guajava\\_L/links/55fae20008ae07629e07b496/Hojas-de-Psidium-guajava-L.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Jesus_Rafael_Rodriguez_Amado/publication/260774883_Hojas_de_Psidium_guajava_L/links/55fae20008ae07629e07b496/Hojas-de-Psidium-guajava-L.pdf)

TANG Y, Kim H, Singh AK, Aroonnu A, Bae E, Rajwa B, Bhunia AK. 2014. Light scattering sensor for direct identification of colonies of *Escherichia coli* serogroups O26, O45, O103, O111, O121, O145 and O157. *PLoS One*. 9(8): e105272. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105272>

VITAS AI, Naik D, Pérez-Etayo L, González D. 2018. Increased exposure to extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing multidrug-resistant Enterobacteriaceae through the consumption of chicken and sushi products. *International journal of food microbiology*. 269: 80-86. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.01.026>

WANG Y, Yam KL. 2018. Inhibitory effect of thymol via different modes of delivery on growth of *Escherichia coli* DH5 $\alpha$ . *Food Packaging and Shelf Life*. 16:92-96. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.02.007>

WITTUM TE, Mollenkopf DF, Daniels JB, Parkinson AE, Mathews JL, Fry PR, Abley MJ, Gebreyes WA. 2010. CTX-M-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamases present in *Escherichia coli* from the feces of cattle in Ohio, United States. *Foodborne Pathog Dis*. 7:1575–9. <https://doi.org/10.1089/fpd.2010.0615>