

RELATÓRIO

“Avaliação da resposta do pró-biótico DB-AQUA à bactéria patogênica *Aeromonas hydrophila*, por meio da ponderação da formação de halos de inibição.”

Data de realização: De 14/10/2016 à 18/10/2016

Cepa utilizada: 81141A– Banco de cepas PREVET

Metodologia

A determinação do poder inibitório das cepas potencialmente pró-bióticas foi realizado de acordo com o método de antagonismo “spot on the lawn”, modificado de acordo com Harris et al. (1989). Os isolados de *Bacillus cereus var. toyoi*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium* e *Lactobacillus acidophilus* foram semeados em caldo MRS (Difco), por um período de 48 horas à 37°C. Posteriormente, a cultura de bactérias pró-bióticas foi homogeneizada e 25 µL da mesma foi semeada em forma de ponto no centro de placas de Petri contendo ágar MRS (Difco). As placas foram deixadas em bancada a temperatura ambiente por 15 minutos e, em seguida, incubadas novamente em estufa a 37°C por 48 horas.

Após o período de incubação, 100 µL da cultura do microrganismo indicador “*Aeromonas hydrophila*” (cultivado previamente em tubos de ensaio contendo caldo BHI) foram transferidos para tubos contendo 10 mL do mesmo meio (porém com adição de ágar), acrescido de 50% de meio MRS Ágar, previamente preparados e mantidos em banho-maria a 45°C.

Em seguida, com a ajuda de uma seringa estéril, os 10 ml contendo meio BHI + meio MRS + microrganismo indicador foram semeados por cima da camada superior das placas de MRS que continham a cultura de bactérias pró-bióticas semeadas na forma de “PONTO” até a solidificação da camada superior. Assim, as placas foram novamente incubadas em estufa, por até 24 horas à 28°C (temperatura ótima para crescimento de *Aeromonas hydrophila*).

A inibição da multiplicação do microrganismo indicador pelas cepas potencialmente pró-bióticas foi mensurada pelo diâmetro final da área de inibição, que corresponde à diferença entre o halo de inibição total e o diâmetro do ponto de inoculação do indicador (CHATEAU et al. 1993).

O teste foi realizado com 4 repetições + Controle e os resultados são apresentados a seguir.

Resultado

Amostra	Data incubação <i>Aeromonas</i>	Data mensuração	Medida Halo de Inibição (mm)
DB AQUA X <i>Aeromonas hydrophila</i>	17/10/2016	18/10/2016	36,5

*Resultado obtido através da média aritmética das 4 repetições

As cepas pró-bióticas contidas no DB AQUA apresentaram atividade antimicrobiana *in vitro* à cepa de *Aeromonas hydrophila* (81141A - PREVET), nos métodos de antagonismo “spot on the lawn”. O antagonismo foi detectado pela presença de zonas de inibição formadas ao redor das culturas e mensuradas em milímetros (mm), variando de 32 a 38 mm de diâmetro, conforme se ilustra na figura B. Todas as 4 repetições de *Aeromonas hydrophila* apresentaram sensibilidade frente ao produto DB AQUA .

Portanto, concluímos que as cepas contidas no produto DB AQUA foram capazes de inibir a cepa 81141A de *Aeromonas hydrophila* (Banco de Cepas PREVET).

Anexos

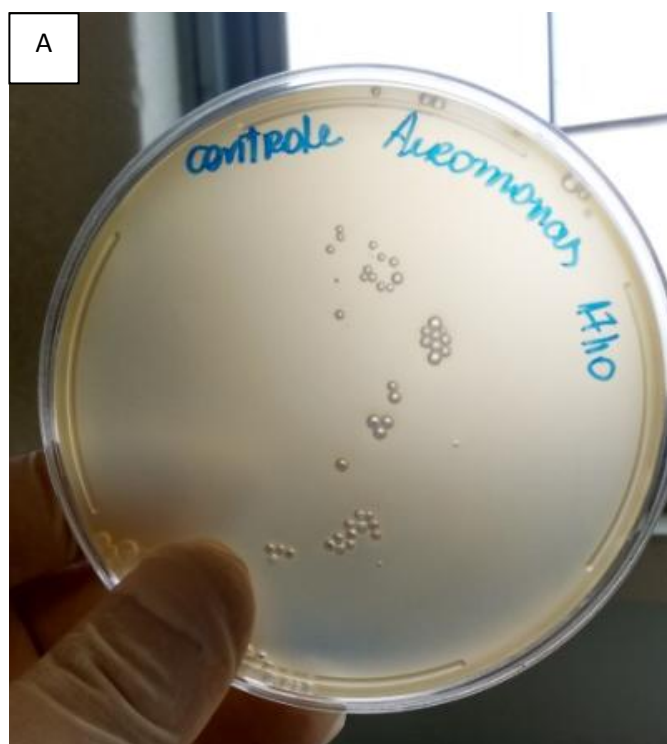


Figura A. Semeadura da multiplicação de *Aeromonas hydrophila* no método “spot on the lawn”, apenas com inoculação de caldo MRS sem acrescentar o pró-biótico DB AQUA (controle negativo).

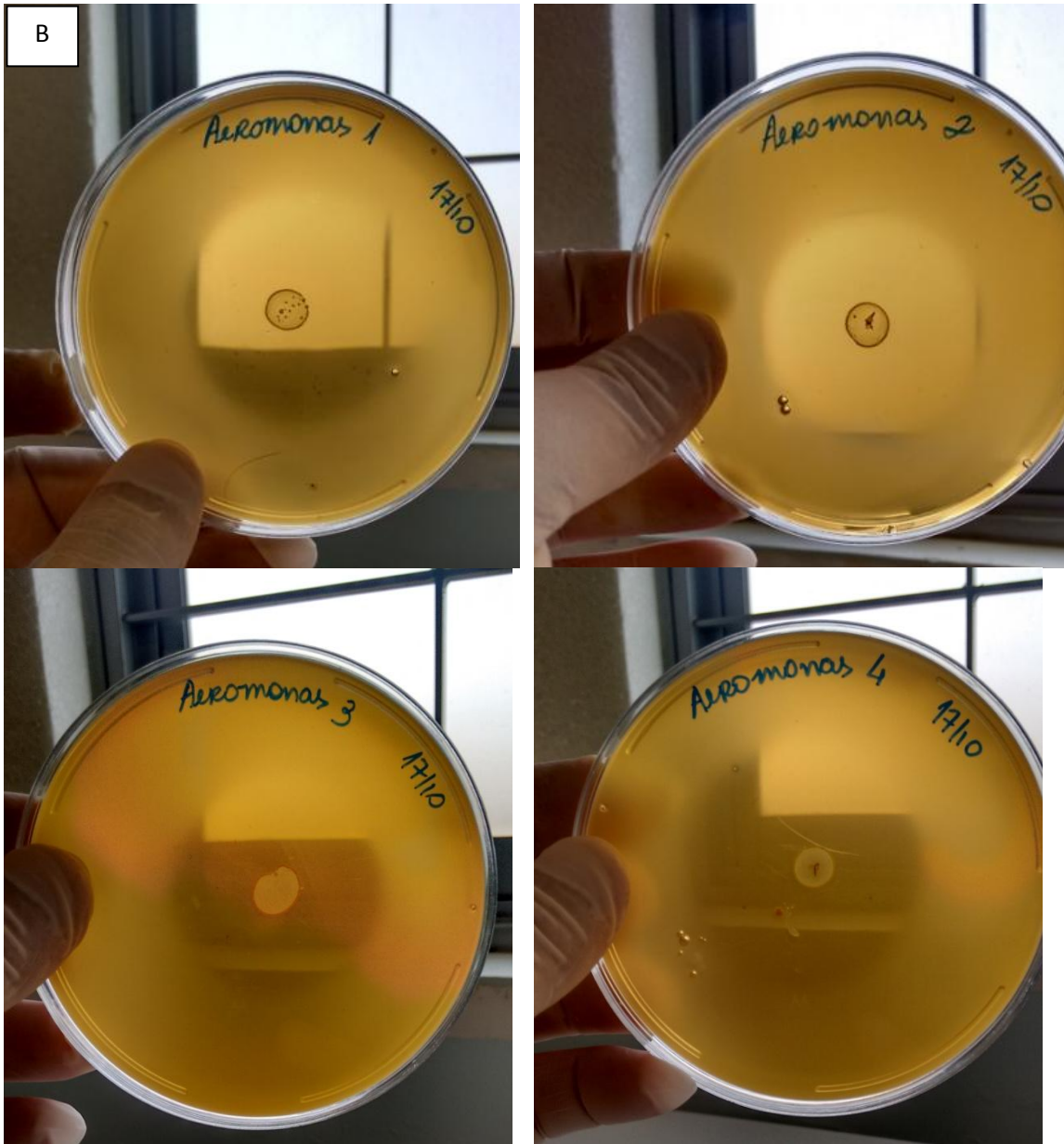


Figura B. Halos de inibição produzidos pelas cepas pró-bióticas do produto DB AQUA frente a cepa de *Aeromonas hydrophila* (81141A – Banco de cepas PREVET) com 4 repetições.

Referências

CHATEAU, N.; CASTELLANOS, I.; DESCHAMIS, A.M. Distribution of pathogen inhibition in the Lactobacillus isolation of a commercial probiotic consortium. **Journal of Applied Bacteriology**, London, v. 74, n. 1, p. 36-40, 1993.

HARRIS, L. J.; DAESCHEL, M. A.; STILES, M. E.; KLAENHAMMER, T. R. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes*. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 52, p. 384-387, 1989.

Miguel Fernandez Alarcon

Miguel Frederico Fernandez Alarcon

P&D na PreVet Laboratório de Diagnóstico e Sanidade Aquícola

www.prevet.com.br

Av. Olga Morello de Stefani, 260, Colina Verde, CEP.:14.887-364, Jaboticabal, São Paulo

Fone: (016) 3202-6298/3202-6610, cel. TIM (16) 99177-4938 VIVO (16)99783-2010

Av. Olga Morello de Stéfani, 260 – Colina Verde – CEP: 14.887-364 , Jaboticabal-SP
Fone: (16) 32026298/32026610 – Cel. (17) 81653003 – e-mail: contato@prevet.com.br