

FABIOLA BRANDÃO DOS SANTOS

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS
HIDROALCOÓLICOS DOS FRUTOS DO CERRADO *Genipa
americana* L., *Dipteryx alata* Vog. E *Vitex cymosa* Bert.**

CAMPO GRANDE-MS
2015

FABIOLA BRANDÃO DOS SANTOS

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS
HIDROALCOÓLICOS DOS FRUTOS DO CERRADO *Genipa
americana* L., *Dipteryx alata* Vog. E *Vitex cymosa* Bert.**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Saúde e Desenvolvimento na
Região Centro-Oeste da
Universidade Federal de Mato
Grosso do Sul, para obtenção do
título de Mestre.

Orientador: Profa. Dra. Maria
Isabel Lima Ramos

Co-orientador: Profa. Dra.
Luciana Miyagusku

CAMPO GRANDE-MS
2015

FABIOLA BRANDÃO DOS SANTOS

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS
HIDROALCOÓLICOS DOS FRUTOS DO CERRADO *Genipa
americana* L., *Dipteryx alata* Vog. E *Vitex cymosa* Bert.**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Saúde e
Desenvolvimento na Região Centro-
Oeste da Universidade Federal de
Mato Grosso do Sul, para obtenção do
título de Mestre

Resultado_____

Campo Grande (MS),____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Isabel Lima Ramos

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

Profa .Dra. Priscila Aiko Hiane

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

Profa .Dra. Raquel Pires Campos

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

Profa. Dra. Luciana Miyagusku

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

AGRADECIMENTOS

A Deus por proporcionar a oportunidade de cursar o mestrado.

Aos meus pais e familiares por estarem sempre presentes, pelo apoio e dedicação.

A minha orientadora Profa. Dra. Maria Isabel Lima Ramos e à minha co-orientadora Profa. Dra. Luciana Miyagusku que dedicaram um pouco de seu conhecimento e de tempo para que esta pesquisa se confirmasse.

Aos técnicos do laboratório de Microbiologia de Alimentos, Lucia, Mariana e Maurício, pela ajuda desde o preparo dos meios, auxílio nas técnicas e na lavagem das vidrarias.

Às doutorandas Magalli Costa e Kátia Wolff e aos membros da banca por dedicarem parte do seu tempo para colaborar com o processo de qualificação e da defesa do mestrado.

Ao programa de pós-graduação Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste que por meio de sua equipe possibilitaram a execução de todo o processo do mestrado.

RESUMO

A resistência microbiana é um sério problema de saúde pública que ocorre no mundo todo, os microrganismos adquirem mecanismos que os tornam resistentes aos mais diversos agentes antimicrobianos. Assim, buscam-se novas alternativas para o tratamento das infecções causadas por esses agentes. O cerrado brasileiro contém inúmeras espécies com compostos bioativos e potencial antimicrobiano, tais como, os frutos de *Genipa americana* L. (jenipapo), *Dipteryx alata* Vog. (baru) e *Vitex cymosa* Bert. (tarumã). A presente pesquisa teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólicos dos frutos jenipapo, baru e tarumã frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*, através dos testes de difusão em disco e microdiluição. Os principais resultados obtidos em relação ao extrato de jenipapo mostraram halos de inibição frente a todos os microrganismos testados, com destaque para o extrato da polpa a 30% que obteve os maiores halos, em especial para o *Staphylococcus aureus* (6,5mm). Os extratos do baru apresentaram resultados satisfatórios nos testes de difusão em disco, sendo que a polpa obteve maiores halos de inibição para *S. aureus* e os extratos da casca a 20 e 30% foram melhores para *E. coli*. Os extratos de tarumã mostraram bons resultados, com destaque para os extratos da polpa e semente a 30%, com maiores halos de inibição para *S. aureus*. No teste de microdiluição, os extratos de jenipapo apresentaram concentração inibitória mínima (CIM) e microbicida mínima (CMM) para todos os microrganismos testados em diluições consideradas satisfatórias (1:32 a 1:64). Os extratos de baru e de tarumã obtiveram CIM e CMM para todos os microrganismos, exceto para *P. aeruginosa* (baru) e para *C. albicans* (tarumã). Todos os frutos apresentaram grande potencial para atividade antimicrobiana frente aos quatro microrganismos testados. Novos estudos devem ser elaborados com intuito de isolar e identificar os compostos bioativos com atividade antimicrobiana, além de ensaios de potencial farmacológico dos mesmos.

Palavras-chave: Antibióticos. Antifúngicos. Compostos bioativos. Concentração Inibitória Mínima

ABSTRACT

Microbial resistance is a serious public health problem that occurs worldwide, microorganisms acquire mechanisms that make them resistant to various antimicrobials. Therefore new alternatives for the treatment of infections caused by these agents are needed. The Brazilian cerrado contains many species with bioactive compounds and antimicrobial potential, such as the fruits *Genipa americana* L. (jenipapo), *Dipteryx alata* Vog. (baru) and *Vitex cymosa* Bert. (tarumã). This research aimed to evaluate the antimicrobial activity of hydroalcoholic extracts of fruits jenipap, baru and tarumã against the microorganisms *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*, through the disk diffusion tests and microdilution. The main results obtained in relation to jenipapo extract showed inhibition zones forward to all the microorganisms, especially the 30% pulp extract that obtained the largest inhibition zones, especially for *Staphylococcus aureus* (6.5mm). The baru extracts presented satisfactory results in disk diffusion tests, the pulp had higher inhibition zones for *S.aureus*, and 20 and 30% of bark extracts were better for *E.coli*. The tarumã extracts had good results too, especially the extracts of its 30% pulp and seeds which had the largest inhibition zones *S. aureus*. In microdilution test, the jenipapo extracts showed minimum inhibitory concentration (MIC) and minimal microbicidal (MMC) for all microorganisms tested dilutions considered satisfactory (1:32 to 1:64). The baru and tarumã extracts obtained MIC and MMC for all microorganisms except for *P. aeruginosa* (baru) and *C. albicans* (tarumã). All fruits have great potential for antimicrobial activity against the four microorganisms tested but new studies should be performed aiming to isolate and identify the bioactive compounds with antimicrobial activity as well as potential pharmacological tests should be done.

Key-words: Antibiotics. Antifungals. Bioactive compounds. Minimum Inhibitory Concentration.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Equivalência entre diluições, quantidades e concentrações dos extratos hidroalcoólicos dos frutos <i>Genipa americana</i> , <i>Dipteryx alata</i> e <i>Vitex cymosa</i> para o teste de microdiluição.....	51
Tabela 2 - Teste de difusão em disco dos antimicrobianos frente aos microrganismos <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Candida albicans</i>	52
Tabela 3 - Teste de difusão em disco dos extratos hidroalcoólicos de <i>Genipa americana</i> a 10%, 20% e 30% frente aos microrganismos <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Candida albicans</i>	54
Tabela 4 - Teste de difusão em disco dos extratos hidroalcoólicos de <i>Dipteryx alata</i> Vog. a 10%, 20% e 30% frente aos microrganismos <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Candida albicans</i>	55
Tabela 5 - Teste de difusão em disco dos extratos hidroalcoólicos de <i>Vitex cymosa</i> Bert., a 10%, 20% e 30% frente aos microrganismos <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Candida albicans</i>	57
Tabela 6 - Teste de microdiluição dos extratos hidroalcoólicos de <i>Genipa americana</i> , a 10%, 20% e 30% frente aos microrganismos <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Candida albicans</i>	62
Tabela 7 - Teste de microdiluição dos extratos hidroalcoólicos de <i>Dipteryx alata</i> Vog, a 10%, 20% e 30% frente aos microrganismos <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Candida albicans</i>	63

Tabela 8 - Teste de microdiluição dos extratos hidroalcoólicos de <i>Vitex cymosa</i> Bert., a 10%, 20% e 30% frente aos microrganismos <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Candida albicans</i>	64
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Células gram-negativas e gram-positivas.....	15
Figura 2 - Bactérias gram-positivas e gram-negativas.....	16
Figura 3 - Microscopia de <i>Aspergillus</i> sp.....	22
Figura 4 - Microscopia de <i>Candida</i> sp.....	22
Figura 5 - Árvore do jenipapo (<i>Genipa americana</i> L.).....	40
Figura 6 - Fruto do jenipapo(<i>Genipa americana</i> L.).....	40
Figura 7 - Árvore do baru (<i>Dipteryx alata</i> Vog.).....	41
Figura 8 - Fruto do baru (<i>Dipteryx alata</i> Vog.).....	42
Figura 9 - Árvore do tarumã (<i>Vitex cymosa</i> Bert.).....	43
Figura 10 - Frutos do tarumã (<i>Vitex cymosa</i> Bert.).....	44
Figura 11 - Teste de difusão em disco com extrato de jenipapo.....	53
Figura 12 - Teste de difusão em disco com extrato de baru.....	55
Figura 13 - Teste de Difusão em disco com extrato de tarumã.....	56
Figura 14 - Microdiluição com extrato de jenipapo.....	62
Figura 15 - Microdiluição com extrato de baru.....	63
Figura 16 - Teste de Microdiluição com extrato de tarumã.....	64

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Microrganismos Bacterianos	15
2.1.1 Aspectos Gerais	15
2.1.2 Classificação das Bactérias	16
2.1.2.1 Bactérias Gram-Positivas	16
2.1.2.2 Bactérias Gram-Negativas	18
2.2 Microrganismos Fúngicos	21
2.2.1 Aspectos Gerais	21
2.2.2. Fungos Oportunistas	22
2.3 Agentes Antimicrobianos	24
2.3.1 Aspectos Gerais	24
2.3.2 Antibióticos	24
2.3.2.1 Betalactâmicos	25
2.3.2.2 Aminoglicosídeos	25
2.3.2.3 Macrolídeos	26
2.3.2.4 Quinolonas	26
2.3.2.5 Tetraciclínas e Cloranfenicol	27
2.3.2.6 Sulfonamidas	27
2.3.2.7 Glicopeptídeos	28
2.3.2.8 Polimixinas	28
2.3.2.9 Anaerobicidas	28
2.3.3 Antifúngicos	29
2.3.3.1 Macrolídeos Políenos	29
2.3.3.2 Azólicos	29
2.3.3.3 Equinocandinas	30
2.3.3.4 Antimetabólicos	30
2.3.3.5 Griseofulvina	30
2.3.3.6 Alilaminas	30

2.4 Resistência Microbiana.....	31
2.4.1 Mecanismos de Resistência Microbiana	32
2.4.1.1. Inibição Enzimática	32
2.4.1.2 Alteração do Sítio de Ação	33
2.4.1.3 Alteração do Transporte	33
2.4.2 Estratégias para Reduzir Resistência Microbiana	34
2.5 Plantas Medicinais.....	35
2.5.1 Uso de Plantas para fins Medicinais	35
2.5.2 Plantas Medicinais com Atividade Antimicrobiana	36
2.6 O Cerrado	38
2.6.1 Frutos do Cerrado	38
2.6.2 Jenipapo (<i>Genipa americana</i> L.)	39
2.6.3 Baru (<i>Dipteryx alata</i> Vog.)	41
2.6.4 Tarumã (<i>Vitex cymosa</i> Bert.).....	43
3 OBJETIVOS	45
3.1 Objetivo Geral	45
3.2 Objetivos Específicos	45
4 MATERIAIS E MÉTODOS	46
4.1 Tipo de Pesquisa	46
4.2 Amostras.....	46
4.3 Local das Análises.....	46
4.4 Preparo dos Frutos.....	47
4.5 Obtenção dos Extratos dos Frutos.....	47
4.6 Obtenção das Cepas Microbianas.....	48
4.7 Meios de Cultura.....	48
4.8 Preparo dos Inóculos Microbianos.....	49
4.9 Avaliação da Atividade Antimicrobiana	49
4.10 Análises Estatísticas.....	51
5 RESULTADOS	52
5.1 Teste de Difusão em Disco.....	52
5.1.1 Antibiograma e Antifungiograma.....	52
5.1.2 <i>Genipa americana</i> L.....	53
5.1.3 <i>Dipteryx alata</i> Vog.	54

5.1.4 <i>Vitex cymosa</i> Bert.	56
5.1.5 Análise Comparativa entre os Frutos.....	57
5.1.5.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	57
5.1.5.2 <i>Escherichia coli</i>	58
5.1.5.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	58
5.1.5.4 <i>Candida albicans</i>	59
5.1.6 Análise Comparativa entre os Extratos e os Antimicrobianos.....	59
5.1.6.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	59
5.1.6.2 <i>Escherichia coli</i>	60
5.1.6.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	60
5.1.6.4 <i>Candida albicans</i>	61
5.2 Teste de Microdiluição	61
5.2.1 <i>Genipa americana</i> L.	61
5.2.2 <i>Dipteryx alata</i> Vog.	62
5.2.3 <i>Vitex cymosa</i> Bert.	64
6 DISCUSSÃO	66
7 CONCLUSÕES	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

1 INTRODUÇÃO

As bactérias são seres procariontes, unicelulares, de tamanho e forma variáveis, estão presentes em praticamente todos os lugares, algumas não possuem caráter virulento, outras podem causar sérias doenças para o ser humano (MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2009) .

Enquanto que os fungos possuem estruturas mais complexas, são eucariontes e se dividem em bolores e leveduras, estão envolvidos em processos de fermentação e em alterações deteriorantes em produtos alimentícios. Podem representar perigo a saúde quando produzem micotoxinas e também em função de alguns fungos serem patógenos oportunistas (FRANCO & LANDGRAF, 2005; MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2009).

Assim, com a finalidade de tratar as enfermidades causadas por esses microrganismos surgiram os antimicrobianos, que possuem mecanismos de ação distintos causando inibição do crescimento microbiano, morte celular ou até mesmo atuando das duas formas.

Porém, alguns desses fármacos, tais como, os pertencentes a classe dos aminoglicosídeos como a gentamicina e o cloranfenicol possuem efeitos colaterais consideráveis, tais como nefrotoxicidade, ototoxicidade e aplasia medular, gerando graves complicações de saúde ao paciente (FUCHS, 2006d; MACHADO e BARROS, 2013b).

Além disso, o uso indiscriminado dos antimicrobianos têm causado um problema ainda mais preocupante, a resistência microbiana, ou seja, quando um microrganismo torna-se insensível a determinado fármaco em uma concentração que antes era eficaz para eliminá-lo (BARTH et al., 2013b).

Devido a resistência bacteriana e fúngica e pelo potencial de toxicidade dos fármacos convencionais buscam-se alternativas de tratamento através do uso de plantas com potencial antimicrobiano.

O cerrado brasileiro possui ampla biodiversidade, cerca de sete mil espécies de plantas e ocupa aproximadamente 21% do território nacional (KLINK & MACHADO, 2005). Embora várias espécies nativas do cerrado apresentem compostos bioativos existem poucos estudos comprovando a sua eficácia, dentre os frutos destacam-se, jenipapo, baru e o tarumã.

Assim, em função da crescente resistência microbiana e da grande variedade de espécies ricas em compostos bioativos presentes no cerrado, o estudo teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólicos da casca, polpa e semente de *Genipa americana* L. (jenipapo), de *Dipteryx alata* Vog. (baru) e de *Vitex cymosa* Bert. (tarumã), através da determinação dos testes de difusão em disco e determinação da concentração inibitória mínima e da concentração microbicida mínima frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Microrganismos Bacterianos

2.1.1. Aspectos Gerais

As bactérias são seres procariontes, o núcleo é desprovido de membrana, o cromossomo é único e com dupla fita, localizado no nucleóide, seu ribossomo é constituído de subunidades 30S e 50S que forma o ribossoma 70S. Outras estruturas que podem ser encontrados nas bactérias são os flagelos responsáveis pela locomoção, pili ou fímbrias que ajudam na adesão e também podem ser sexuais, além de polímeros de superfície, como cápsulas, responsáveis por fatores de virulência protegendo a célula contra a fagocitose (MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2009).

A parede celular mantém a estabilidade, é uma estrutura rígida encontrada na maioria das bactérias. O principal componente é o peptideoglicano composto de N-acetilglicosamina e ácido N-acetilmurâmico sendo que nas bactérias gram-positivas este se encontra mais externamente dando proteção ao microrganismo, enquanto que nas gram-negativas o composto mais abundante é o lipopolissacarídeo e sua parede celular é mais fina composta de membrana externa, peptideoglicano e membrana interna, vide Figura 1 (MARTINS et al., 2013).

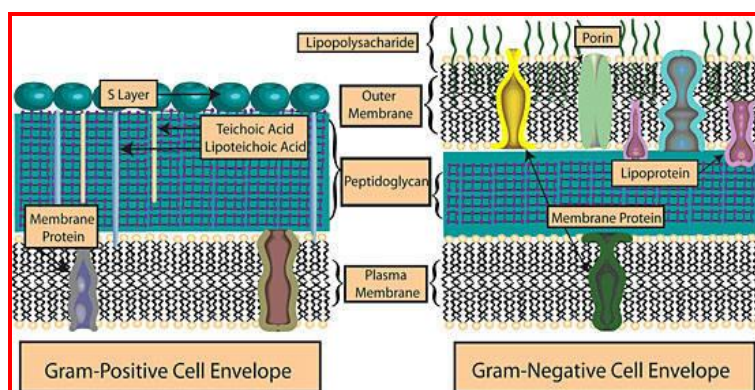


Figura 1 - Células gram-negativas e gram-positivas
Fonte - CORNELL UNIVERSITY, 2015.

A técnica de coloração de Gram, descritas por Murray, Rosenthal & Pfaller (2009), consiste em um teste muito importante para diferenciar as duas grandes classes bacterianas, sendo que as bactérias gram-positivas ficam com coloração púrpura, pois o corante fica retido na camada de peptidoglicano e as gram-negativas por possuírem uma camada fina de peptidoglicano não retém o corante violeta, dessa forma a coloração fica rosa-avermelhada (Figura 2).

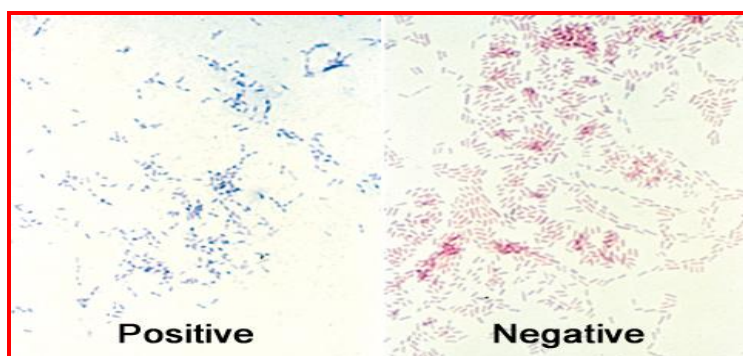


Figura 2 - Bactérias gram-positivas e gram-negativas
Fonte - VIDAVER e LABRECHT, 2004.

A identificação entre esses dois tipos de bactérias é muito importante para auxiliar o diagnóstico e contribuir para uma terapêutica medicamentosa mais adequada, pois se o agente for gram-negativo opta-se portanto por fármacos com espectro de ação para esses microrganismos assim como se os agentes fossem gram-positivos a escolha terapêutica seria diferente.

2.1.2 Classificação das Bactérias

2.1.2.1 Bactérias Gram-Positivas

As bactérias gram-positivas possuem uma parede celular espessa constituída essencialmente por peptidoglicanos, estrutura fundamental para duplicação e sobrevivência da célula. Outros componentes são: ácidos teicóicos, lipoteicóicos e polissacarídeos C que são importantes fatores de virulência (MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2009).

Existem também subdivisões na classificação das bactérias gram-positivas tais como: cocos gram-positivos aeróbicos ou anaeróbios facultativos, como *Staphylococcus* que podem produzir enterotoxinas nos alimentos e *Enterococcus*; bacilos gram-positivos produtores de esporos, como *Bacillus*, cujos esporos podem ser muito resistentes a variações de temperatura, radiações e agentes químicos e bacilos gram-positivos não esporulados como os *Lactobacillus* que produzem ácido láctico e a *Listeria*, responsável pela listeriose cujos sintomas são septicemia, endocardite, meningite e conjuntivite (FRANCO & LANDGRAF, 2005).

O *Staphylococcus aureus* é um coco gram-positivo aglomerado em formação de cacho de uva, anaeróbio facultativo, tem como características a presença de coagulase, proteína A, ácido teicóico, é capaz de produzir muitas toxinas em temperaturas entre 10° e 46°C, sendo cinco citolíticas, duas esfoliativas, oito enterotoxinas e uma responsável pela síndrome do choque tóxico (MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2009).

De acordo com Franco & Landgraf (2005), os *Staphylococcus aureus* são mesófilos, com temperatura ótima de crescimento variável de 7°C a 47°C, multiplicam-se em 7,5% a 15% de cloreto de sódio, são encontrados em vias aéreas superiores do homem assim como lesões de pele e por isso são facilmente transmitidas para os alimentos através de manipuladores.

Uma fonte de disseminação da bactéria *Staphylococcus aureus* provem da própria comunidade. Estudo feito por Fosch et al. (2012) mostrou que, 79,3% dos indivíduos analisados eram portadores deste microrganismo.

Outros dados epidemiológicos sugerem que este microrganismo está presente na pele e na superfície mucosa de seres humanos além de sobreviverem em superfícies secas por longos períodos e são capazes de se disseminar por contato de pessoa a pessoa ou por objetos contaminados (MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2009).

Um estudo envolvendo neonatos internados em unidade de terapia intensiva mostrou que 40% deles apresentaram sepse, sendo o *Staphylococcus aureus* um dos principais agentes causadores (BORGES et al., 2009).

Pesquisa realizada por Moura et al. (2011), relatou que profissionais da área de enfermagem eram colonizados com *Staphylococcus aureus*, essa situação foi considerada de risco tanto para o paciente quanto para o trabalhador, pois estes funcionários trabalham em unidades hospitalares de maior gravidade como a UTI,

reforçando a adoção de políticas que atuem na prevenção e combate a resistência microbiana.

Outras doenças causadas por *Staphylococcus aureus* incluem síndrome do choque tóxico, síndrome da pele escaldada, foliculite, impetigo que praticamente são doenças mediadas por toxinas, além de infecções hospitalares e comunitárias causadas por espécies resistentes aos antibióticos usuais (MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2009).

O *Staphylococcus aureus* também causa intoxicação alimentar, através da produção de toxinas (A, B, C1, C2, C3, D e E) em alimentos do tipo cremes, saladas de batata e carnes que permaneceram no intervalo de temperatura entre 10°C e 46°C, sendo que quanto mais baixa a temperatura maior o tempo necessário para a produção de enterotoxina. O período de incubação varia entre meia hora a oito horas após a ingestão do alimento contaminado e tem como principais sintomas náuseas, vômitos, dores abdominais fortes, diarreia e sudorese (FRANCO & LANDGRAF, 2005).

2.1.2.2 Bactérias Gram-Negativas

As bactérias gram-negativas são complexas, as suas paredes celulares contém duas camadas externas à membrana citoplasmática, importantes para manter a estrutura e barreiras de permeabilidade às grandes moléculas, como também oferecem proteção contra condições ambientais adversas. Na parte externa à membrana celular encontra-se uma camada fina de peptideoglicano, não contém ácidos teicóicos e lipoteicóicos e a face externa é composta pelo lipopolissacarideo (LPS), uma endotoxina responsável por desencadear respostas imunológicas do hospedeiro (MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2009).

De acordo com Franco & Landgraf (2005), existem subdivisões na classificação das gram-negativas como por exemplo: as aeróbias, como *Campylobacter*, cujas espécies são causadoras de gastroenterites de origem alimentar; as aeróbias estritas, como as dos gêneros *Pseudomonas* e *Xanthomonas*; as anaeróbias facultativas tais como as famílias *Enterobacteriaceae* e *Vibrionaceae* que podem ser encontradas no trato intestinal e em alimentos.

A *Escherichia coli*, é um bacilo gram-negativo, não esporulado, capaz de fermentar glicose produzindo gás e ácido, pertence ao grupo dos coliformes fecais, que são indicadores de contaminação em alimentos, podem causar reações indesejáveis tornando o alimento insatisfatório para o consumo (FRANCO & LANDGRAF, 2005).

Esta bactéria está associada a inúmeras doenças principalmente de origem gastrintestinais porém há também aquelas com manifestações extra-intestinais como infecções do trato urinário, meningites e septicemias (MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2009).

Um estudo realizado com uroculturas, mostrou que as enterobactérias predominaram nos casos de infecção do trato urinário, sendo que a bactéria predominante foi a *Escherichia coli* e algumas das cepas foram resistentes aos antimicrobianos: amoxicilina, gentamicina, tetraciclina, nitrofurantoína e cloranfenicol. Assim como foi encontrado o mesmo microrganismo nas pesquisas realizadas em coproculturas de crianças hospitalizadas (BAIL, ITO & ESMERINO, 2006; REZAEI, SHEIKHALIZADEH & HASANI, 2011; MOURA et al., 2012).

Existem vários sub-tipos de *Escherichia coli* já classificadas e com grande potencial patogênico dentre elas estão:

-*Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC): é a primeira categoria do tipo diarreiogênica identificada, atravessam a barreira gástrica e aderem a mucosa do intestino causando o desaparecimento das microvilosidades. O reservatório é o homem, a transmissão se dá por contato pessoal e ingestão de água e de alimentos contaminados, e nos ambientes hospitalares é possível contrair pelas vias aéreas (TRABULSI & ORDOÑEZ, 2005).

- *Escherichia coli* enteroemorrágica (EHEC): causa diarreia hemorrágica, o mecanismo se dá pela sobrevivência ao ambiente ácido do estômago, adesão à mucosa, colonização do colo e produção e absorção da toxina Shiga (Stx), ocorre lesão vascular e em casos mais graves ocorre a síndrome hemolítica-urêmica com perda de sangue pelas fezes e insuficiência renal. Uma das causas da infecção é a ingestão de carne bovina mal passada, vegetais e sucos fermentados. Outra fonte de contaminação é a água de piscinas públicas (ORDOÑEZ & TRABULSI, 2005).

- *Escherichia coli* enteroagregativa (EAEC): tem como característica principal a capacidade de apresentar um padrão de adesão exclusivo umas as outras, lembrando tijolos empilhados. Os sintomas são diarreia secretora, mucóide e

aquosa. É capaz de colonizar várias regiões do trato intestinal sem danos aparentes a mucosa do intestino delgado e as bactérias ficam emaranhadas em uma camada espessa de biofilme com muco em abundância (ELIAS-JUNIOR & GOMES, 2005).

- *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC): é característica de países em desenvolvimento, geralmente é adquirida pelo consumo de água e/ou alimento contaminado com fezes. A diarreia secretora aquosa acompanhada de dor abdominal ocorre após dois dias de incubação e persiste por até cinco dias, produzem toxinas termolábeis e termoestáveis (MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2009).

- *Escherichia coli* enteroinvasora (EIEC): é um importante agente causador de diarreia no homem, causa infecção semelhante a de *Shigella*, a mucosa do colon é seu sítio de infecção. Os sintomas são febre, mal estar, cólicas abdominais e diarreia aquosa seguida de disenteria de poucas fezes, muco e sangue. A transmissão é fecal-oral pela ingestão de água e alimentos contaminados (MARTINEZ, 2005).

- *Escherichia coli* de infecções extra-intestinais (ExPEC): se subdividem em (UPEC - *E.coli* Uropatogênica), que causa infecção urinária e está entre as infecções mais frequentes em todo o mundo, as bactérias migram do intestino para regiões periuretrais, se aderem ao epitélio, multiplicam-se e ocorre esfoliação das células infectadas; em hospitais a infecção é facilitada pelo uso de cateteres. O outro tipo causa meningite e bacteremia principalmente em neonatos (MNEC - *E. coli* associada a Meningite Neonatal) com alta taxa de mortalidade e sequelas neurológicas (FRANZOLIN, CAMPOS & TRABULSI, 2005).

Outro microrganismo gram-negativo muito discutido pertence ao gênero *Pseudomonas*, tem a morfologia de bacilos retos ou curvos, móveis, catalase e oxidase positivos, não fermentadores, oxidam glicose, podendo ser encontrados em produtos tanto de origem animal quanto vegetal (FRANCO & LANDGRAF, 2005).

A bactéria *Pseudomonas aeruginosa* está amplamente distribuída no ambiente, especialmente em locais úmidos como pias, banheiros, equipamentos hospitalares como os de ventilação mecânica e de hemodiálise. É um patógeno que dificilmente causa infecção em indivíduos imunocompetentes. De modo geral atua em pacientes traumatizados, transplantados, prematuros, neonatos, idosos, pacientes que fazem uso de quimioterapia, corticoterapia. Outrossim, é um dos

principais agentes de infecção hospitalar, em especial, em casos de pneumonia, infecção urinária e bacteremias (MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2009).

Além disso, *Pseudomonas aeruginosa* é um agente que possui a habilidade de produzir biofilmes, polímeros de superfícies que contém alginato, os quais podem ser responsáveis por infecção pulmonar recorrentes em pacientes com fibrose cística, uma vez que o biofilme evita a chegada de neutrófilos ao sítio de infecção protegendo a bactéria do ataque do sistema complemento (MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2009; PEREZ et al., 2011).

O diagnóstico de *Pseudomonas aeruginosa* é feito por isolamento, identificação e antibiograma. Este microrganismo necessita de pouco substrato nutricional, cresce rápido em todos os meios líquidos, produz piocianina e/ou pioverdina que dá cor característica verde-azulada das colônias. Tolerante a uma grande variedade de ambientes, condições físicas, temperatura e desinfetantes. Tem capacidade de se proliferar em água destilada e água mineral, pois, tem preferência por ambientes úmidos tais como solo, água, vegetais e no organismo humano o períneo, axilas e ouvido, e no ambiente hospitalar em equipamentos respiratórios, soluções de limpeza, desinfetantes, misturadores de alimentos e vegetais (LINCOPAN & TRABUSLI, 2005).

Não existe um protocolo de terapia medicamentosa para tratar infecções causadas por *Pseudomonas aeruginosa*, nem a relação custo/benefício envolvendo a monoterapia e a terapia combinada, mas sabe-se que o uso de terapia combinada tem o objetivo de minimizar a ocorrência de resistência (LOPES, 2009).

2.2 Microrganismos Fúngicos

2.2.1 Aspectos Gerais

Os fungos são seres uni ou pluricelulares, podendo ser classificados de forma ampla em leveduras, que constituem seres unicelulares que preferem a temperatura de 37°C, bolores ou fungos filamentosos que são pluricelulares que crescem preferencialmente em temperaturas de 25°C, e fungos dimórficos que podem se

apresentar de forma tanto de levedura quanto de bolores que seguem ambas as temperaturas descritas (BARTH et al., 2013a).

A maioria dos fungos são aeróbios, heterotróficos, se reproduzem por formação de esporos sexuais ou assexuais, são bioquimicamente ativos, produzem metabólitos primários como o ácido cítrico e também secundários como a penicilina e aflatoxinas (MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2009).

A estrutura básica dos bolores, como os *Aspergillus* sp. (Figura 3) são os filamentos denominados hifas, que em conjunto formam o micélio, responsáveis pela fixação do bolor ao substrato e a por sua reprodução. Enquanto que as leveduras podem ser esféricas ou cilíndricas, requerem menos umidade, o pH ideal é ácido e os açúcares são a melhor fonte de energia. O gênero *Candida* é um dos representantes das leveduras (Figura 4), são de classificação complexa e não produzem esporos assexuais, outras leveduras são *Cryptococcus* encontrados no solo e em pescados marinhos (FRANCO & LANDGRAF, 2005).



Figura 3 - Microscopia de *Aspergillus* sp.
Fonte - SEIDL, 2006.



Figura 4 - Microscopia de *Candida* sp.
Fonte - NATURDATA, 2012.

2.2.2 Fungos oportunistas

De acordo com Murray, Rosenthal & Pfaller (2009), poucos fungos tem caráter virulento, ou seja, capazes de gerar uma infecção em indivíduos imunocompetentes, a maioria são patógenos oportunistas que desencadeiam infecção somente quando o hospedeiro tem falhas em uma de suas barreiras como pele e mucosas, ou em seu sistema imunológico que podem ser provocadas por enfermidades, tais como, AIDS e câncer. São considerados oportunistas fungos como: *Cryptococcus* spp, *Aspergillus* spp. e *Candida* sp.

O fungo *Cryptococcus* spp. é encontrado em solos enriquecidos com fezes de aves em especial de pombos e a infecção se dá por inalação de leveduras ou inoculação por feridas cutâneas, podendo causar problemas mais graves como pneumonia criptocócica e meningites (MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2009).

O fungo *Aspergillus* spp. encontra-se em solo, plantas e em condimentos como pimentas, a infecção se dá pela inalação de conídeos e transferência do fungo das feridas para curativos e ataduras que se tornam contaminadas, as complicações mais frequentes são aspergilose broncopulmonar alérgica, aspergiloma e sinusite (MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2009).

O fungo *Candida albicans* é de baixa virulência, oportunista, que convive com indivíduos imunocompetentes, porém, podem ser patogênicos em pacientes com imunidade comprometida, gravidez, idade avançada, prematuridade e transplantados. É o agente mais comum da candidíase, sendo a maior parte desta infecção causada por via endógena, porém casos de infecções hospitalar foram relatados (MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2009).

A candidíase oral é mais frequente em pacientes gravemente enfermos, recém nascidos que contraíram da mucosa vaginal da mãe e também é um indicador de AIDS em pacientes do grupo de risco. Enquanto que a candidíase sistêmica é grave ocorre como decorrência de imunodepressão, procedimentos e uso de equipamentos invasivos e antibioticoterapia prolongada, atinge os rins, cérebro, coração, trato digestório, sistema respiratório e hematológico causando febre, dor, erupção cutânea e endoftalmite em casos mais graves sepse e óbito (GOMPERTZ et al., 2005; COLOMBO e GUIMARÃES, 2003).

O levantamento feito por Holanda et al. (2007) de culturas vaginais e anais mostrou que em 69% foram identificados o agente *Candida albicans*; assim como outro estudo feito com pacientes hospitalizados apresentaram o mesmo fungo nos exames de urocultura, relatando como fatores predisponentes o uso de sonda

vesical, infecção fúngica do trato urinário, uso prévio de antibióticos e/ou imunossupressores, cirurgia recente e insuficiência renal (OLIVEIRA et al., 2001).

Estudo com neonatos internados em unidade de terapia intensiva relatou que 19,3% estavam colonizados por *Candida sp.* e destes 93,3% foram resistentes ao fluconazol, anfotericina B, nistatina, cetoconazol e miconazol. Os autores justificam a colonização por cândida a baixa idade gestacional, uso prévio de antibióticos e o uso de cateter vascular central umbilical (BORGES et al., 2009).

2.3 Agentes Antimicrobianos

2.3.1 Aspectos Gerais

Os antimicrobianos são um grupo de medicamentos muito utilizados tanto em ambiente ambulatorial quanto hospitalar para o tratamento de doenças infecciosas, podem ser classificados quanto a origem do antimicrobiano: sintéticos ou produzidos por outros microrganismos, pelo efeito que causa: bactericidas e/ou bacteriostáticos e também por microrganismos aos quais são susceptíveis: antibacterianos, antifúngicos, antivirais e antiparasitários (MACHADO e BARROS, 2013a).

Outra classificação pode ser feita através do mecanismo de ação do fármaco, como, agentes que atuam na síntese de parede celular, fármacos que atuam na membrana, outros atuam em subunidades cromossômicas e agentes que afetam o metabolismo (CHAMBERS, 2010a).

A fim de relatar o uso de antibióticos pela população, Berquó et al. (2004), realizaram um levantamento sobre o assunto e mostraram que dos entrevistados, 491 relataram ter usado algum antimicrobiano, sendo que sulfas e penicilinas obtiveram mais de 50% do percentual total de antibióticos para o tratamento de infecções de vias aéreas superiores e infecção urinária.

2.3.2 Antibióticos

2.3.2.1 Betalactâmicos

Este grupo está representado pelos antibióticos mais antigos que tem como característica o anel betalactâmico, as estruturas químicas ligadas a ele são o que diferenciam os tipos: penicilina, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenêmicos (FUCHS, 2006a).

O mecanismo de ação baseia-se na inibição da enzima D-alanil-D-alanina transpeptidase, interrompendo a formação da parede celular ocasionando sua lise. (FUCHS, 2006b).

Os fármacos desta classe, de um modo geral, são indicados para o tratamento de infecções causadas por estreptococos, pneumococos, gram-positivos como o *Staphylococcus aureus*. Muitos gram-negativos como a *Pseudomonas aeruginosa* são sensíveis à penicilina do tipo piperacilina e aos monobactâmicos como o aztreonam. Porém, as penicilinas perderam efeito contra gonococos, *Salmonella* e *Shigella* devido a resistência microbiana (MACHADO & BARROS, 2013a).

As cefalosporinas, estão entre os antibióticos mais prescritos, podem ser classificadas em: primeira geração (cefalexina), segunda geração (ceflacor), terceira geração (ceftriaxona) e quarta geração (cefepima) (MACHADO & BARROS, 2013a).

Os carbapenêmicos, tais como o imipenem e o meropenem possuem maior abrangência de atividade antimicrobiana, porém devem ser indicados apenas em infecções graves causadas por microrganismos multirresistentes, uma vez que são indutoras de produção de β -lactamases (FUCHS, 2006b).

As reações adversas dos fármacos dessa classe incluem: hipotensão, febre, dermatites, broncoespasmo, artralgia, neurotoxicidade, flebites, hepatotoxicidade e hemorragia (FUCHS, 2006b; PETRI, 2010a; BARROS & MACHADO, 2013a).

2.3.2.2 Aminoglicosídeos

Os aminoglicosídeos, tais como a gentamicina e tobramicina são agentes bactericidas de mecanismo de ação múltiplo, quanto mais alta a concentração do fármaco mais rapidamente sua ação, se ligam aos polissacarídeos da parede celular

e inibem a síntese protéica bacteriana por ligação irreversível a subunidade 30S do ribossomo, como consequência ocorre lise bacteriana (MACHADO, 2006a).

Tais fármacos possuem espectro de ação para gram-negativos e com atividade limitada contra gram-positivas. Os efeitos indesejáveis são nefrotoxicidade, ototoxicidade e bloqueio neuromuscular que se agravam devido a fatores como idade avançada, doença renal preexistente, desidratação e outros fármacos como diuréticos de alça, cefalosporinas e anfotericina B (MACHADO & BARROS, 2013b; MACHADO, 2006a).

2.3.2.3 Macrolídeos

Os fármacos que pertencem a esta classe são a eritromicina, azitromicina, claritromicina e roxitromicina. O mecanismo de ação se baseia na ligação às frações 50s de ribossomos fazendo com que haja inibição da síntese protéica bacteriana e dependendo da dose, concentração, inóculo e do microrganismo a ação final pode ser bacteriostática ou bactericida (FUCHS, 2006c).

De modo geral tem atividade contra pneumococos e estreptococos, apresentam a função de reduzir a produção de biofilmes por *Pseudomonas aeruginosa*, são indicados também para o tratamento de infecções de vias aéreas, seios da face, pele, gonorréia e uretrites. As reações adversas são irritação gastrointestinal, hepatite colestática e tonturas (MACHADO & BARROS, 2013a).

2.3.2.4 Quinolonas

As quinolonas tem o maior número de representantes farmacológicos, seu mecanismo de ação se baseia na inibição das enzimas DNA girase e DNA-topoisomerase (PETRI, 2010b).

De acordo com Barros & Machado (2013b) esta classe pode ser dividida em: primeira geração (ácidos nalidíxico), segunda geração (norfloxacin), terceira geração (ciprofloxacina), quarta geração (levofloxacina) e a de quinta geração (moxifloxacina), que de um modo geral são utilizados no tratamento de infecções

urinárias, contra os microrganismos *Pseudomonas aeruginosa*, pneumococos, estreptococos, *Mycoplasma* e *Chlamydia*.

2.3.2.5 Tetraciclinas e Cloranfenicol

As tetraciclinas e o cloranfenicol foram os antibióticos primordiais, o mecanismo de ação se baseia em ligar-se ao RNA mensageiro tanto nas frações 30S quanto na 50S dificultando a síntese protéica bacteriana (FUCHS, 2006d).

As tetraciclinas são doxiciclina, tetraciclina, limeciclina e glicilciclina que atuam contra estreptococos, clamídias, vibriões, espiroquetas. Podem ser usadas em tratamentos cutâneos e em doenças sexualmente transmissíveis. Os efeitos indesejáveis são descoloração e depósito do fármaco no esmalte dos dentes, retardo no crescimento ósseo de fetos e crianças em desenvolvimento (MACHADO, BARROS & SILVA, 2013).

O cloranfenicol é utilizado em casos de meningite bacteriana, abscesso cerebral, infecções por *Clostridium perfringens* e febre tifoide, porém não é mais considerado um antibiótico de escolha, a não ser que haja indisponibilidade de outros medicamentos no local, devido aos potenciais efeitos adversos como a aplasia medular e a síndrome cinzenta do bebê recém-nascido (FUCHS, 2006d).

2.3.2.6 Sulfonamidas

A estrutura química das sulfas se assemelha ao ácido para-aminobenzóico, o mecanismo de ação se baseia no bloqueio da síntese de ácido fólico, uma substância essencial para formação de purinas e como consequência ocorre a interferência na produção de ácido nucléico (WANNMACHER, 2006).

As sulfas foram um dos primeiros antibióticos sistêmicos a serem prescritos, porém, seu uso excessivo gerou resistência microbiana, somente a sulfadiazina e o sulfametoxazol associado ao trimetopim continuam sendo receitados. Os principais usos são para o tratamento de toxoplasmose, infecções gastrintestinais e do trato urinário além de brucelose e osteomielite (MACHADO e BARROS, 2013c).

Os efeitos adversos relatados foram hiperbilirrubinemia, *kernicterus* em recém-nascidos, anemia, nefrite, cristalúria, queimação e rash cutâneo (WANNMACHER, 2006).

2.3.2.7 Glicopeptídeos

O mecanismo de ação consiste em interromper a síntese de peptideoglicanos da parede celular de gram-positivas (MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2009).

Estão disponíveis a vancomicina e teicoplanina, os quais são usados para infecções graves por gram-positivos de origem hospitalar resistente aos beta-lactâmicos, porém tem como efeitos indesejáveis a ototoxicidade e reações de hipersensibilidade (MACHADO & BARROS, 2013a).

2.3.2.8 Polimixinas

As polimixinas E e B são extremamente tóxicas, na década de 70 houve descarte de seu uso, porém com a evolução da resistência microbiana de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter*, seu uso foi retomado em casos onde não há resposta dos outros antimicrobianos para tratar infecções graves causadas por estes microrganismos (MACHADO & BARROS, 2013a).

O mecanismo de ação consiste em se inserir nas membranas e interagir com lipopossacarídeos e fosfolipídeos aumentando a permeabilidade celular e sua lise (MURRAY,ROSENTHAL & PFALLER, 2009).

2.3.2.9 Anaerobicidas

Os representantes deste grupo são a clindamicina, lincomicina e o metronidazol. Inibem a síntese protéica bacteriana, são ativos contra microrganismos anaeróbios e cocos gram-positivos, não são efetivos contra leveduras e gram-negativos (BEHAR, 2006; MACHADO & BARROS, 2013a).

2.3.3 Antifúngicos

2.3.3.1 Macrolídeos Polienos

O mecanismo de ação se baseia na alteração da permeabilidade da membrana, por exemplo, a anfotericina, um antifúngico sistêmico, se liga aos esteróis provocando o extravasamento dos componentes intracelulares do fungo. É indicado no tratamento de infecções progressivas e graves, tais como aspergilose, coccidioidomicose, criptococose, leishmaniose mucocutânea e infecções intra-abdominais (SPRINZ, JEFFMAN & DEUTSCHENDORF, 2013).

A nistatina, um antifúngico tópico, possui amplo espectro e mecanismo de ação parecido com a anfotericina B. É indicado principalmente para infecções cutâneas e mucosas superficiais causadas por *Candida* (BENNETT, 2010).

2.3.3.2 Azólicos

Esta classe pode ser dividida em imidazólicos quando apresentam em sua estrutura química dois átomos de nitrogênio no anel azólico e triazólicos quando contém três nitrogênios no anel. O mecanismo de ação consiste em inibir a enzima 14- α -demetilase do lanosterol impedindo a síntese de ergosterol, como consequência interrompe a síntese de membrana celular (MURRAY, ROSENTHAL e PFALLER, 2009).

Alguns agentes imidazólicos são cetoconazol, clotrimazol e o miconazol, utilizados em tratamentos tópicos, candidíase mucocutânea, criptococose não meníngea e candidíase superficial resistente (BENNETT, 2010; SPRINZ, JEFFMAN e DEUTSCHENDORF, 2013).

O fluconazol, é um agente triazólico, tem boa penetração no sistema nervoso central (liquor e cérebro), mostrou-se eficaz em casos de meningite criptocócica de pacientes com HIV e em casos de candidíase sistêmica com o mesmo efeito que a anfotericina B, também foi eficaz no combate a criptococose e a *C. neoformans* e suas variações (SANTOS-JUNIOR, 2005; MACHADO, 2006b).

O estudo de Alves, Camargo & Goulart (2010), revelou a concentração inibitória mínima da anfotericina B que foi de 0,25 μ g/mL, do fluconazol de 4 μ g/mL e

do voriconazol de 0,125µg/mL frente a *Candida albicans*, e a pesquisa de Vasconcelos-Junior et al. (2012), obteve concentração inibitória mínima da anfotericina B de valor menor que 0,1µg/mL e o fluconazol teve valor médio de 0,37µg/mL frente ao mesmo fungo.

2.3.3.3 Equinocandinas

Trata-se de uma classe altamente seletiva que inibe a síntese de β -1,3-glucanas da parede celular fungica, resultando em atividade fungicida contra *Candida spp.* e *Aspergillus spp.* São fármacos desta classe a anidulafungina, e capsofungina (MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2009; BENNETT, 2010).

2.3.3.4 Antimetabólicos

O único agente disponível é a flucitosina que é ativa contra cepas de *Candida*, e *Criptococos*, seu uso é sempre associado a outro antifúngico pois há relatos de resistência fúngica quando usado isoladamente. É muito tóxico principalmente para o sistema hematológico, causando leucopenia, plaquetopenia e anemia na primeira semana de uso (SPRINZ, JEFFMAN e DEUTSCHENDORF, 2013).

2.3.3.5 Griseofulvina

Este fármaco é muito utilizado em dermatófitos como *Mycosporum*, sendo seu uso no tratamento de micoses de pele, cabelo e unhas, as reações adversas mais relatadas foram cefaléia, neurite periférica, confusão mental e vertigem (SPRINZ, JEFFMAN e DEUTSCHENDORF, 2013).

2.3.3.6 Alilaminas

Essa classe possui agentes que tem a função tanto sistêmica quanto tópicas, tem como representante a terbinafina eficaz no tratamento de todas as formas de

dermatofitoses, age diminuindo o ergosterol e aumentando o esqualeno dentro da célula fungica (MURRAY, ROSENTHAL & PFALLER, 2009).

2.4 Resistência Microbiana

O termo resistência microbiana significa que o microrganismo é capaz de crescer *in vitro* na presença de uma certa concentração da droga que seria eficaz para combater a doença provocada por ele (BARTH et al., 2013b).

Os tipos de resistência bacteriana podem ser divididos em natural ou intrínseco, uma vez que bactérias já nascem resistentes aos antimicrobianos devido a inexistência de um sistema metabólico ou estruturas alvo de ação dos antimicrobianos, como por exemplo microrganismos desprovidos de parede celular. A resistência pode ser também fisiológica, como os biofilmes fixados em superfícies que dificultam a penetração de agentes antimicrobianos; e o último tipo é a resistência adquirida, que decorre do uso inadequado e exposição prolongada de antimicrobianos fazendo com que os microrganismos desenvolvam novos mecanismos de defesa, e transmita aos outros microrganismos de sua mesma espécie por mutação ou transferência horizontal de material genético (FUCHS, 2006a).

Alguns exemplos de casos de resistência microbiana são, os bacilos gram-negativos em geral, como os estreptococos do grupo B e pneumococos, os quais são resistentes à penicilina G, *Salmonella* e *Shigella* que são resistentes à todas as penicilinas. Muitos gram-negativos como *Escherichia coli* e *Klebsiella sp.* são resistentes as cefalosporinas de primeira geração. Os cocos gram-positivos resistentes a um macrolideo geralmente apresentam resistência cruzada aos demais (BARTH et al., 2013b).

Outros exemplos incluem as enterobactérias que possuem resistência intrínseca a Penicilina G, vancomicina, teicoplanina, eritromicina, azitromicina e clindamicina, *Pseudomonas aeruginosa* tem resistência a ampicilina, amoxicilina, cefalosporinas de primeira e segunda geração, cefotaxima, ceftriaxona, ácido nalidíxico, sulfametoxazol/trimetropim, tetraciclina, canamicina e cloranfenicol, e o

Staphylococcus aureus resistentes a oxacilina são também resistentes a todos beta-lactâmicos (BARTH et al., 2013b).

Os microrganismos aeróbicos gram-negativos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter sp.*, *Kelbsiella pneumoniae* e *Serratia sp.*, são os principais microrganismos multirresistentes, em alguns casos, o antibiograma mostra que um ou nenhum antimicrobiano é ativo para essas cepas, dificultando o tratamento e a expectativa de vida dos pacientes, principalmente daqueles em estado crítico e imunodeprimidos (FUCHS, 2006a).

A realidade cada vez mais frequente do uso inadequado de antimicrobianos, principalmente em infecções não-sensíveis aos antibióticos de escolha e em doenças de origem não infecciosa, como profilaxia contribuem para a geração de resistência de milhares de microrganismos e para agravar o quadro, a velocidade de descoberta de novos fármacos antimicrobianos não acompanha o aparecimento de cepas resistentes, tornando-se então um ciclo vicioso (FUCHS, 2006a).

Assim, praticamente os autores concordam com a afirmação de Barth et al. (2013b) dizendo que o tratamento com o uso de antimicrobianos deve ser feito apenas para situações em que o seu uso seja comprovado, evitando assim o desenvolvimento de resistência microbiana gerando custos para a sociedade na realização do tratamento com agentes terapêuticos mais eficazes.

2.4.1 Mecanismos de Resistência Microbiana

Os mecanismos de resistência microbiana podem ser: por inativação enzimática, alteração do sítio de ação do antibiótico e por alteração do transporte do antibiótico (BARTH et al., 2013b).

2.4.1.1. Inibição Enzimática

Este é o principal mecanismo de resistência adquirida, principalmente contra os antibióticos beta-lactâmicos, as bactérias neste caso produzem enzimas denominadas betalactamases capazes de hidrolisar os anéis beta-lactâmicos inativando o antibiótico (BARTH et al., 2013b).

O *Staphylococcus aureus* é um exemplo clássico de resistência adquirida, no início, este microrganismo era sensível a penicilina, porém com o passar dos anos algumas cepas desenvolveram o mecanismo de produção de betalactamases inativando o fármaco, e em seguida optou-se pelo uso de penicilinas penicilinase-resistentes, mais conhecido como meticilina. Novos estudos foram feitos e verificou-se que este é inativado por novas betalactamases produzidas pelo mesmo microrganismo. A fim de tratar infecções por *Staphylococcus aureus*, desenvolveu-se então a vancomicina, porém já foram encontrados cepas também resistentes a este fármaco (FUCHS, 2006a).

A bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, é naturalmente resistente à maioria dos antibióticos usados para tratamento de bactérias gram-negativas em especial às fluoroquinolonas e tem mecanismos de resistência adquirida após exposição prévia como no caso dos antibióticos β -lactâmicos, possui fatores que fazem com que os antibióticos sejam menos efetivos, tais como a produção de β -lactamases cromossomal, β -lactamases de amplo espectro membrana impermeável, capacidade de formar biofilmes, aquisição de plasmídios de resistência transferidos por transdução e conjugação, produção de carbapenemases que agem degradando os antimicrobianos imipenem e meropenem (LINCOPAN & TRABULSI, 2005).

2.4.1.2 Alteração do Sítio de Ação

A alteração do sítio de ação pode ser ocasionada por mutação ou modificação do alvo e também por aquisição de uma forma resistente do alvo. Para que este processo seja efetivo a mutação não deve prejudicar nem causar morte celular e seu mutante original deve se replicar caso contrário a mutação será inválida. A resistência por mecanismo de transferência horizontal é a mais comum e se dá por transdução, transformação ou conjugação (CHAMBERS, 2010a).

Os microrganismos resistentes às sulfonamidas devem-se ao mecanismo de mutação e seleção aleatória ou ainda por transferência de resistência transmitida por plasmídios com consequência de ser irreversível (PETRI, 2010b).

2.4.1.3 Alteração do Transporte

Neste tipo de mecanismo, ocorre a inibição do transporte devido a diminuição da entrada de antibióticos na célula bacteriana por mutações nas porinas que são responsáveis por facilitar a entrada do antibiótico na célula bacteriana ou também por efluxo do antibiótico em que a célula retira o antibiótico de dentro dela. Este mecanismo é mais frequente em gram-negativas uma vez que estas possuem uma membrana externa extinta em gram-positivos. A *Pseudomonas aeruginosa* é intrinsicamente resistente a vários antimicrobianos devido a baixa permeabilidade celular e também por uma habilidade de efluxo altamente específico (BARTH et al, 2013b).

A resistência de alguns fármacos como cloranfenicol, quinolonas, tetraciclina e betalactâmicos se dá através da bomba de efluxo por componentes da membrana reduzindo as concentrações intracelulares dos antibióticos (CHAMBERS, 2010b).

O uso exagerado e inadequado de quinolonas levou ao desenvolvimento de resistência a múltiplas drogas inclusive as que pertencem aos outros grupos como carbapenêmicos, aminoglicosídeos e cefalosporinas através do mecanismo de indução da expressão de bombas de efluxo (MACHADO e BARROS, 2013a).

2.4.2 Estratégias para Reduzir Resistência Microbiana

O uso racional de antimicrobianos ainda é a melhor alternativa para reduzir novos casos de resistência porém há uma dificuldade por parte de prescrição médica, muitos profissionais da área tratam simples inflamações com antimicrobianos e essa visão que precisa ser modificada (FUCHS, 2006a).

A fim de otimizar o uso de antimicrobianos Berquó et al. (2004) sugerem que haja divulgação de materiais sobre uso racional de antimicrobianos e testes microbiológicos mais rápidos para facilitar e orientar a terapêutica.

A disseminação da resistência microbiana exige uma conduta mais criteriosa diante do uso de antibióticos, tais como atitudes preventivas de vacinação, controle de cateteres, escolha de antibioticoterapia com base nos testes de sensibilidade dos microrganismos (CHAMBERS, 2010a).

No caso da resistência fúngica, para minimizá-la é necessário restringir a antibioticoterapia inadequada, além de evitar também a profilaxia antifúngica (MACHADO, 2006b).

O estudo de Oliveira et al. (2011), reforça a necessidade de medidas de controle e treinamento da equipe multidisciplinar para a indicação adequada do antibiótico para tratar determinadas infecções.

De acordo com Zimerman (2010), existem diversas estratégias para se reduzir o número de resistência microbiana e sugere, a redução do número de prescrições desses fármacos, porém acredita que essa seja a medida mais difícil a ser realizada pois requer grandes mudanças por parte da equipe prescritora. Outra sugestão é o uso de posologias modificadas de antimicrobianos a fim de melhorar a farmacodinâmica do medicamento, ou então combinar diferentes antimicrobianos como por exemplo, utilizar um que tenha resistência juntamente com outro que seja sensível assim não haveria evolução da resistência.

De acordo com Wannmacher (2004), o uso apropriado de antibióticos deve atender às necessidades do paciente, ou seja a cura da enfermidade e também evitar futuros problemas como a resistência adquirida dos pacientes e também da comunidade.

A fim de reduzir aumento dos casos de resistência microbiana e o consumo exagerado e inadequado de agentes antimicrobianos pela população, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), aprovou uma norma para regulamentar a venda de antibióticos no Brasil, a RDC nº 20/2011 (BRASIL, 2011), assim há dispensação adequada dos antibióticos com o agente mais apropriado para tratar a infecção do paciente e na quantidade indicada pelo prescritor, uma vez que é necessário a retenção da receita médica no ato da compra do medicamento.

Outras alternativas são a busca por novos agentes naturais que sejam capazes de atuar como agentes antimicrobianos com poucos efeitos colaterais e com maior diversificação de mecanismo de ação farmacológica.

2.5 Plantas Medicinais

2.5.1 Uso de Plantas para fins Medicinais

Há muitos anos a população utiliza as plantas para fins medicinais e este uso despertou o interesse de pesquisadores que visam comprovar e identificar os

compostos que tem atividade farmacológica para que futuramente possam até se tornar fitoterápicos ou contribuir para a síntese de fármacos.

Um estudo feito para identificar as plantas utilizadas pelos índios Tapebas do Ceará identificou várias espécies tais como quebra-pedra (*Phyllanthus amarus*) para calculo renal, linhaça (*Leucena glauca*) para trombose e tumores, cumaru (*Amburana cearensis*) para asma e bronquite e mamoeiro (*Carica papaya*) como anti-helmintico (MORAIS et al., 2005).

O levantamento feito por Pinto, Amorozo & Furlan (2006), sobre o uso de plantas medicinais usados pela comunidade estudada, descreve o uso de picão (*Bidens pilosa*) para tratamento de hepatite, capim-santo (*Cymbopogon citratus*) para gripe, caju (*Anacardium occidentale*) para cicatrização de feridas, alho (*Allium sativum*) para tosse e o fedegoso (*Senna occidentale*) para febre.

Existem outras plantas que são de uso popular para tratar diversas enfermidades, tais como o alecrim (*Rosmarinus officinalis*) para sinusite, a babosa (*Aloe vera*) para feridas e inflamações, o boldo do Chile (*Pneumus boldus*) para afecções do fígado, erva cidreira (*Lippia alba*) para transtornos do sistema nervoso, guaco (*Mikania glomerata*) para tosse, pata de vaca (*Bauhinia sp.*) para diabetes e unha de gato (*Mimosa polydactyla*) para tratar infecções urinárias e problemas de próstata (RODRIGUES & ANDRADE, 2014).

Há também relatos do uso do coqueiro (*Cocos nucifera*) para dores de cabeça, ouvido e garganta, melão-caetano (*Mamordica charantia*) para reumatismo, piolho e carrapato de animais e romã (*Punica granatum*) para inflamações em geral (FREITAS & COELHO, 2014)

Em relação às espécies do cerrado para uso medicinal pode-se citar o araçá (*Psidium guineense*) usado para tratar diarreia e cicatrizar feridas, o araticum (*Annona coriacea*) para enfermidades como artrite, enxaqueca, sífilis e feridas cancerosas, a pata-de-vaca (*Bauhinia sp.*) no tratamento de diabetes tipo II, mamica-de-cadela (*Brosimum gaudichaudii*) para o vitiligo e o caraguatá (*Bromelia balansae*) como antitussígeno, aftas e asma (ABRÃO, 2010).

2.5.2 Plantas Medicinais com Atividade Antimicrobiana

O aumento da incidência de casos de resistência microbiana fez com que pesquisadores buscassem novos tratamentos que pudessem ter o potencial antimicrobiano, com redução de efeitos adversos e até mesmo a própria resistência.

Existem diversos estudos mostrando a eficácia de extratos obtidos de diferentes partes de plantas frente aos mais diversos microrganismos, como por exemplo pesquisas com *Escherichia coli*, utilizando óleo-resina de copaíba (MENDONÇA & ONOFRE, 2009), extrato hidroalcoólico de alho (OTA et al., 2010), extrato de *Ayahuasca* (Santo-Daime) (LIMA & COELHO, 2013), e extrato hidroalcoólico de *Morus nigra* (amora preta) (SANTOS et al., 2013).

Estudos envolvendo o microrganismo *Staphylococcus aureus* incluem os realizados com o extrato aquoso do fruto de *Physalis angulata* L. (físalis) (LOPES et al., 2006), o extrato hidroalcoólico de *Anacardium occidentale* (caju) (SILVA et al., 2007a), o extrato hidroalcoólico de *Punica granatum* (romã) (TRINDADE, FONSECA & JUIZ, 2009), o óleo essencial das sementes de sucupira branca (DUTRA et al., 2009), os extratos etanólico de plantas como *B. virgilioides* (sucupira preta) e *C. brasiliense* (guanandi) (SILVA-JUNIOR et al., 2009), o extrato de *Anadenanthera macrocarpa* (angico) (PALMEIRA et al., 2010), os extratos de taninos isolados das folhas de *Anacardium humile* (cajuzinho-do-cerrado) (FERREIRA et al., 2012), o extrato hidroalcoólico de *Ilex paraguayensis* (erva-mate) (BITTENCOURT-JUNIOR et al., 2012) e com diversas espécies de pitaya e mirtilo (FAZIO et al., 2014).

As pesquisas que incluem atividade antimicrobiana frente a *Pseudomonas aeruginosa* são aquelas realizadas com o extrato alcoólico *Schinus terebenthifolius* Raddi (aroeira vermelha) (DEGÁSPARI, WASZCZYNSKYJ & PRADO, 2005), extratos etanólico de *Cassia Occidentalis* (fedegoso) (SADIQ et al., 2012), com óleo essencial extraído das folhas de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela) (DIAS et al., 2012) e com extrato da farinha da casca de manga (ARBOS, STEVANI & CASTANHA, 2013).

Estudos relacionando não só atividade antibiótica mas também atividade antifúngica, incluem os realizados com aroeira do sertão, malva e goiabeira (ALVES et al., 2009), com óleos essenciais de plantas brasileiras tais como *Citrus aurantium* (laranja), *Citrus limon* (limão), *Citrus reticulata* (tangerina) e *Campomanesia xanthocarpa* (guabiroba amarela) (CAVALCANTI et al., 2012), com extratos de alho (PINHEIRO et al., 2014) e com extrato etanólico da jabuticaba (PINTO et al., 2014).

No entanto, alguns estudos não demonstram resultados satisfatórios contra determinados microrganismos tais como, os realizados com extratos de *Q. gradiflora* (pau-terra do cerrado) e *C.prunifera* (carnaúba) e *D.lacunifera* (castanha de burro) (AYRES et al., 2008), com os extratos de alecrim-pimenta, barbatimão e a casca do pequi (PINHO et al., 2012) e com o extrato hidroalcoólico de boldo chinês (SANTOS et al., 2014).

2.6 O Cerrado

O bioma cerrado contém as três maiores bacias hidrográficas da América do Sul, apresenta duas estações definidas como inverno seco e verão chuvoso, suas árvores possuem características bem definidas como plantas de médio a pequeno porte com troncos retorcidos e raízes longas que favorecem a absorção de água do solo (SANTOS et al., 2010).

De acordo com Klink e Machado (2005), o cerrado possui uma biodiversidade que se constitui de cerca de sete mil espécies de plantas dos tipos herbáceos, arbustivos, arbóreos e cipós ocupando aproximadamente 21% do território nacional.

Pereira et al.(2007) relatam que o cerrado é muito rico em espécies com usos medicinais devido às características peculiares como sua morfologia do tipo xilopódio e com cascas que acumulam nutrientes de reserva para a planta que possivelmente possuem substâncias farmacologicamente ativas.

O cerrado sul mato-grossense abriga uma grande diversidade dessas plantas, especialmente as frutíferas, tais como o pequi, o jatobá e a gabioba que se destacam por sua forma, cor e sabores característicos (ABRÃO, 2010).

2.6.1 Frutos do Cerrado

As frutas do cerrado, desde os tempos mais antigos já eram muito utilizadas pelos povos indígenas como fonte de alimento e constituem um meio de famílias da região utilizá-las para o preparo de doces, geléias e sucos para oferecer aos turistas que visitam a região como forma de aproveitamento sustentável e obtenção de renda (AGOSTINI-COSTA et al., 2006).

Os frutos nativos do cerrado tais como a caju (*A. humile*), cagaita (*E. dysenterica*) e gabioba (*Campomanesia sp.*) são boas fontes de compostos fenólicos quando comparados com o maracujá, abacaxi e cupuaçu indicando bom potencial antioxidante (ROCHA et al. 2011).

O araticum (*Annona coriacea*) possui polpa cremosa, rica em vitamina C, magnésio e pigmentos carotenóides, as suas folhas são utilizadas em abscessos, feridas cancerosas e sifilíticas, enquanto suas sementes têm ação contra ectoparasitas (DAMASCENO-JUNIOR & SOUZA, 2010; ABRÃO, 2010).

O jatobá (*Hymenaea sp.*) possui terpenos e compostos fenólicos com atividade antiparasitária, antioxidante e antimicrobiana, em especial frente ao *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (TAMAYO, GONZÁLEZ & GARCÉS, 2008; FERNANDES, SANTOS & PIMENTA, 2005).

O pequi (*Caryocar brasiliense*) tem propriedade estimulante do sistema imunológico, possui o éster denominado examoato de etila, responsável pela atividade antimicrobiana contra o fungo *Paracoccidioides brasiliensis* (ABRÃO, 2010). O óleo extraído do fruto tem propriedades antimicrobianas frente aos microrganismos *S. aureus*, *S. epidermitis*, *E.coli* e *P. aeruginosa* (SOARES, 2014).

O marmeleiro (*Alibertia sessilis*) tem indicação para o tratamento da candidíase oral e gonorréia (ABRÃO, 2010). Os isolados fitoquímicos presentes na planta obtiveram atividade antimicrobiana frente aos fungo *C. cladosporioides* e *C. shaerospermum* (SILVA et al. 2007b)

O buriti (*Mauritia flexuosa*) tem a propriedade energética e fortificante, o óleo de sua amêndoa contém alto teor de beta-caroteno e vitamina D (ABRÃO, 2010). O óleo do buriti apresenta atividade antimicrobiana para os microrganismos *S. aureus*, *S. epidermitis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *C. krusei* (SOARES, 2014).

Outros frutos que podem apresentar potencial para a atividade antimicrobiana são *Genipa americana* L. (jenipapo), *Dipteryx alata* Vog. (baru) e *Vitex cymosa* Bert. (tarumã). A seguir serão apresentados algumas particularidades sobre cada um desses frutos.

2.6.2 Jenipapo (*Genipa americana* L.)

O jenipapo (*Genipa americana* L.), pertence à família Rubiaceae, trata-se de uma árvore de aproximadamente 12m de altura (Figura 5), com flores amareladas e frutos de cor castanho-acinzentada com período de frutificação entre os meses de outubro a fevereiro (DAMASCENO-JUNIOR & SOUZA, 2010).



Figura 5 - Árvore do Jenipapo (*Genipa americana* L.)
Fonte - Fabíola Brandão dos Santos, 2013.

O fruto (Figura 6) é explorado de forma extrativista, porém seu cultivo se realiza em pequena escala e especialmente em áreas indígenas. A árvore do jenipapo suporta os grandes períodos de alagamento, é resistente aos períodos de seca e assim seu uso é viável para ajudar na recuperação de áreas degradadas de mata ciliar (SILVA et al., 2006b).



Figura 6- Fruto do jenipapo (*Genipa americana* L.)
Fonte - MACIEL, 2013.

O jenipapo tem propriedades purgativas, digestivas e tônicas, é muito utilizado em problemas gástricos e intestinais como, enterite crônica, acidez estomacal, hidropsia e é utilizado pela comunidade de Pernambuco para tratar tosse, catarro, anemia e alguns tipos de câncer (ABRÃO 2010; RODRIGUES & ANDRADE, 2014).

O fruto apresenta compostos bioativos como ácidos genípico, genipínico, considerados agentes antimicrobianos, além de geniposídeos, ácido geniposídico e iridóides denominados secoiridóides. A planta também é rica em taninos, jenipapina, ácido tartárico e glicose (GOTTLIEB & MORS, 1980; ABRÃO, 2010).

Alguns estudos revelaram o potencial para atividade antimicrobiana do jenipapo, tais como, os extratos hexânico e alcóolico obtidos do fruto, inibiram microrganismos patogênicos (BATISTA, 2008), e o seu óleo apresentou uma ampla ação antibacteriana sobre microrganismos resistentes a antibióticos tais como o *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* (BARBOSA, 2008).

2.6.3 Baru (*Dipteryx alata* Vog.)

O baru (*Dypterix alata* Vog.), é uma espécie arbórea de aproximadamente 25m de altura (Figura 7), pertence à família Fabaceae, encontrada na região centro-oeste brasileira. É uma planta com grande poder fixante de nitrogênio tendo assim necessidade de solos como os encontrados no cerrado (BOTEZELLI, DAVID & MALAVASI, 2000; DAMASCENO-JUNIOR & SOUZA, 2010).



Figura 7 - Árvore do baru (*Dipteryx alata* Vog.)
Fonte - Fabíola Brandão dos Santos, 2013.

O período de frutificação se dá nos meses de julho a setembro. O fruto do cumbaru (Figura 8), conhecido também como baru, tem a forma ovóide do tipo

carnoso que apresenta somente um caroço (DAMASCENO-JUNIOR e SOUZA, 2010).



Figura 8 - Fruto do baru (*Dipteryx alata* Vog.)
Fonte - CENTRAL DO CERRADO, 2008.

As amêndoas do baru possuem baixo teor de umidade, alto teor de lipídeos composto principalmente de ácidos graxos insaturados, além de ser rico em proteínas, vitaminas e minerais como potássio, fósforo, ferro e enxofre, sendo considerada uma boa fonte alimentar (VERA et al., 2009).

O estudo feito com o óleo obtido da semente do baru por Takemoto et al. (2001) mostrou um elevado índice de alfa-tocoferol, ácido oleico, e linoleico além de um elevado grau de insaturação favorecendo seu uso em indústrias farmacêuticas e oleoquímicas. Além disso apresenta propriedades antimicrobianas frente aos microrganismos *S. aureus*, *E.coli*, *P. aeruginosa* e *C. krusei* (SOARES, 2014).

Há uma crescente exploração comercial das amêndoas do baru pelo método de extrativismo, principalmente na região de Goiás, pois há facilidade de transporte e armazenamento dos frutos, o sabor é apreciado por grande parte da população e as sementes não possuem agrotóxico. Porém, para a comercialização em nível industrial, existem alguns pontos não favoráveis, tais como, a irregularidade na produção dos frutos e a necessidade de substâncias que retardem o processo de rancificação lipídica (SANO, BRITO & RIBEIRO, 2006).

Existem muitos relatos do uso do baru como antimicrobiano, os quilombolas utilizavam o fruto como antibiótico contra infecções internas no pós-parto e contra edemas durante a gravidez (CEZARI, 2010) e a pesquisa realizada por Novaes e Yano (2010), mostrou que o extrato bruto etanólico do fruto do baru apresentou halo de inibição para as bactérias *Stahylococcus aureus* e *Neisseria gonorrhoeae*, sugerindo seu uso como agente antibacteriano.

A casca do baru contém compostos fitoquímicos importantes tais como quatro tripterpenos do tipo lupano (lupeol e lupenona), nove isoflavonas, como por exemplo,

(7-hidroxi-8,4-dimetoxisoflavona), uma chalcona (4,2,4-trihidroxichalcona), uma auron (sulfretina) e três compostos fenólicos como o ácido vanílico (PUEBLA et al. 2010), além disso a casca do baru mostrou atividade antiofídica *in vitro* frente ao veneno de *Bothrops jararacussu* (NAZATO et al., 2010).

O estudo *in vitro* feito por Ferraz et al. (2014) concluiu que as isoflavonas isoladas do baru são ativas contra a paralisia neuromuscular provocada pelo veneno de *Bothrops jararacussu* e previne a mionecrose induzida pelo veneno afirmando que estes compostos tem potencial para tratamento contra o veneno de picadas de cobra.

2.6.4 Tarumã (*Vitex cymosa* Bert.)

O tarumã (*Vitex cymosa* Bert.), pertence à família Verbenaceae, é uma árvore que atinge aproximadamente 20m de altura (Figura 9), os frutos possuem casca de cor roxa, do tamanho de uma azeitona, possui somente um caroço e tem a polpa arroxeadada e succulenta (DAMASCENO-JUNIOR & SOUZA, 2010). É comum a sua ocorrência em matas de galeria e áreas de inundação temporária (GUARIM-NETO, 1991).



Figura 9- Árvore do tarumã (*Vitex cymosa* Bert.)
Fonte - Fabíola Brandão dos Santos, 2013.

O fruto (Figura 10) apresenta baixo valor calórico 39,6 Kcal/100g, alto teor de umidade, o que pode favorecer o processo de deterioração do fruto, apresenta baixo

teor de sódio, porém o teor de potássio é elevado além de ser rico em minerais como o fósforo e ferro e em menor quantidade apresenta cálcio, magnésio, manganês, zinco e cobre (CALDEIRA et al., 2004).



Figura 10 - Frutos do tarumã (*Vitex cymosa* Bert.)
Fonte - MAIOCHI e PROCHNOW, 2009.

O gênero *Vitex* apresenta vários compostos bioativos que tem função anti-inflamatórias, antioxidantes, antimicrobianas e anti-histamínicas, sua composição química contem iridóides, flavonóides e fitoesteróis, sendo uma importante fonte natural para possível desenvolvimento de novos fármacos para tratar diversos tipos de enfermidades (MEENA et al., 2011).

O óleo essencial do tarumã é rico em vários componentes químicos, o estudo de Fonseca et al. (2006) que analisou sua composição química por cromatografia de fase gasosa verificou a ocorrência de ácidos graxos, aldeídos, butanolidos e esteres de ácidos graxos, porém observaram a ausência de compostos terpenóides, apresentou atividade antimicrobiana frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*.

As folhas do tarumã contem um iridóide não glicosídico denominado tarumal, viteóide II e agnusideo (SANTOS et al. 2001). Os iridóides possuem a função de proteção contra predadores e também assumem a função de antimicrobiano além de outras funções tais como antiespasmódico e hepatoprotetor (TUNDIS et al. 2008).

Com base nas informações acima, nota-se que os frutos do cerrado possuem muitos compostos bioativos responsáveis pelos efeitos antioxidante, antimicrobiano e antiinflamatório, assim, constituem-se de grandes fontes para pesquisa e para o desenvolvimento de novos princípios ativos a serem utilizados na elaboração de fármacos e tratamento de diversas enfermidades, com ênfase na descoberta de novas alternativas para o tratamento de infecções microbianas, uma vez que os microrganismos estão cada vez mais resistentes.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólicos dos frutos *Genipa americana* L. (jenipapo), *Dipteryx alata* Vog. (baru) e *Vitex cymosa* Bert. (tarumã).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar o antibiograma das cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*;
- Realizar o antifungiograma da cepa de *Candida albicans*;
- Efetuar o teste de difusão em disco dos extratos da casca, polpa e semente de cada fruto;
- Determinar a concentração inibitória mínima e a concentração microbicida mínima de cada extrato da casca, polpa e semente de cada fruto.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Tipo de Pesquisa

Trata-se de uma pesquisa experimental *in vitro* realizada em laboratório que dispensa autorização do comitê de ética por não fazer uso de animais e de humanos.

4.2 Amostras

Os frutos de *Genipa americana* L. (jenipapo) foram coletados maduros durante os meses de novembro de 2013 a janeiro de 2014, na região central de Campo Grande-MS. Os frutos maduros de *Dypterix alata* Vog. (baru) foram coletados nos meses de agosto e setembro de 2013, e os frutos de *Vitex cymosa* Bert. (tarumã) coletados no mês de dezembro de 2013 no Campus da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, na cidade de Campo Grande- MS.

Após a coleta, os frutos foram acondicionados em sacos plásticos, identificados, lacrados e levados para o laboratório onde foram armazenados sob congelamento até o preparo dos extratos hidroalcoólicos.

Uma parte do material vegetal contendo folhas, flores e frutos foram coletados com intuito de identificar as espécies vegetais no Herbário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Os números dos registros do Herbário foram 40.010 para o fruto *Dipteryx alata* Vog., 40.011 para *Genipa americana* L. e 42.645 para *Vitex cymosa* Bert.

4.3 Local das Análises

Os procedimentos de obtenção dos extratos dos frutos e análises das atividades antimicrobianas foram realizados nos laboratórios de Físico - Química e de Microbiologia de Alimentos da Unidade de Tecnologia de Alimentos (UTA), e no laboratório de Farmacognosia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) no período de setembro de 2013 a setembro de 2014.

4.4 Preparo dos Frutos

Os frutos foram limpos com água corrente e colocados em recipiente contendo 36 mL de solução de hipoclorito de sódio 0,96% p/p de cloro ativo (Pury Vitta) em 6 litros de água durante quinze minutos. Posteriormente foram enxaguados em água corrente, deixados secar naturalmente e após a secagem, seguiu-se o processo de separação dos frutos em casca, polpa e semente.

A casca, polpa e semente dos frutos foram homogeneizadas e reduzidas a partículas menores com auxílio do turrax (Turrac TE-102 Tecnal).

4.5 Obtenção dos Extratos dos Frutos

Os extratos hidroalcoólicos dos frutos foram preparados de acordo com a Farmacopéia Brasileira (2010) e adaptações Bittencourt-Junior et al. (2012), além disso, optou-se em realizar os testes de atividade antimicrobiana com três concentrações diferentes dos extratos, assim como realizado na pesquisa de Lima & Coelho (2013).

Cada parte do fruto triturada foi pesada separadamente em erlenmeyer nas quantidades de 10 gramas, 20 gramas e 30 gramas em balança semi-analítica (BL 3200-H) e adicionou-se solução hidroalcoólica a 70% para se obter a proporção de 10, 20 e 30% (m.v-1) dos extratos. Os erlenmeyers com as soluções resultantes foram vedados, envoltos por papel laminado, armazenados à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, durante um período de 25 dias.

Após o período de repouso do extrato, seguiu-se o processo de filtração em papel de filtro qualitativo com porosidade de 3 micras (Nalgon). O filtrado foi evaporado (Rotoevaporador R-3, Buchi) em temperatura de 50° C para eliminar todo o solvente. Ao final do processo foram adicionados 20 mL de etanol P.A. 95% (Proquimios) para ressuspender o material resultante e foram armazenados em frascos âmbar fechados a temperatura de 8°C.

4.6 Obtenção das Cepas Microbianas

As cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* testadas foram provenientes do Instituto Fiocruz/RJ (INCQS) e rastreáveis pela American Type Culture Collection (ATCC).

4.7 Meios de Cultura

Para obter a viabilidade dos microrganismos, utilizou-se o caldo de enriquecimento Brain Heart Infusion (Biobras), preparado diluindo-se 37 g em 1000 mL de água destilada e aquecimento em microondas (Eletrolux). Este caldo foi distribuído em tubos de ensaio com rosca (5 mL/tubo) para posteriormente serem autoclavados (Autoclave Fanem-415) por quinze minutos a temperatura de 121°C.

Para o cultivo bacteriano utilizou-se o caldo Mueller-Hinton (Difco) em tubos (5mL), que foi preparado de acordo com as orientações do fabricante (diluição de 21g/1000mL de água destilada), e o ágar Mueller-Hinton (Kasvi), preparado diluindo-se 36g/1000mL de água destilada, aquecendo até completa solubilização. Estes meios de cultura foram esterilizados em autoclave (Fanem-415) por 15 minutos, em temperatura de 121°C.

O cultivo do fungo *Candida albicans* foi realizado utilizando-se o caldo Sabouraud-Dextrose (Kasvi) preparado diluindo-se 30 g em 1000 mL de água destilada, e o ágar Sabouraud-Dextrose (Himedia) na diluição de 65 g em 1000 mL de água destilada e aquecimento em microondas para solubilização. Ambos os meios

de cultura foram esterilizados em autoclave (Fanem-415) por 15 minutos, em temperatura de 121°C.

4.8 Preparo dos Inóculos Microbianos

Os inóculos microbianos foram preparados repicando-se de duas a quatro colônias em 9 mL de solução salina 0,9% estéril, comparando-se a turbidez com o tubo nº 0,5 da escala McFarland a fim de se obter cerca de 10^6 UFC.mL⁻¹ e para teste confirmativo realizou-se a inoculação de 10 µL do inóculo preparado em placas de Petri, através da técnica de plaqueamento em profundidade e incubou-se a 35°C/24h, no caso do cultivo bacteriano e a 27°C/42h para fungo. Após incubação, procedeu-se a contagem de UFC (CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE-CLSI, 2005).

4.9 Avaliação da Atividade Antimicrobiana

As avaliações da atividade antimicrobiana foram realizados de acordo com os testes de difusão em disco e microdiluição propostos pela CLSI (2002; 2003; 2005).

O teste de difusão em disco foi feito com discos de papel filtro estéreis (Sensibiodisc - Cecon) impregnados com auxílio de micropipeta (Digipet) a quantidade de 50 µL dos extratos hidroalcoólicos de cada parte dos frutos, nas três concentrações em quintuplicatas. Após a impregnação dos mesmos, estes foram mantidos em placas com tampa semi-aberta por 24 horas em capela de exaustão de fluxo laminar para secagem e evaporação do solvente (GONÇAVES, ALVES-FILHO & MENEZES, 2005).

As placas com ágar Muller-Hinton para agentes bacterianos e ágar Saboraud Dextrose para *Candida albicans* foram inoculadas pela técnica de inoculação em superfície, que consistiu em espalhar o inóculo microbiano de modo homogêneo com auxílio de alça de Drigalski de vidro, e em seguida os discos foram distribuídos e pressionados levemente sobre a placa, considerando-se a distância entre os discos para evitar interferências entre os possíveis halos de inibição. O controle

negativo constitui-se de disco de papel filtro sem nenhum reagente e o de controle positivo, o antimicrobiano de acordo com a cepa testada (CLSI, 2005).

No antibiograma para as cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, utilizou-se os antibióticos (LB Laborclin): tetraciclina (30 µg), azitromicina (15 µg), cloranfenicol (30 µg), penicilina G (10 UI), vancomicina (30 µg), gentamicina (10 µg), que foram distribuídos nas placas contendo ágar Mueller-Hinton. As placas foram incubadas invertidas em estufa (Nova ética) a temperatura 35°C/24h.

O antifungiograma para a cepa de *Candida albicans* utilizou-se como antifúngicos (CECON) a nistatina (100 UI) e o fluconazol (25 µg) que foram distribuídos em placas contendo ágar Sabouraud-Dextrose, e posteriormente incubadas não invertidas em estufa (BOD-TE 371) a 27°C/42h.

Após o período de incubação, foi realizada a leitura dos resultados, que consistiu na medição do diâmetro dos halos de inibição com o paquímetro (Allen). Os halos de inibição dos extratos dos frutos foram comparados com os halos de inibição de padrões de antimicrobianos.

Os extratos hidroalcoólicos dos frutos *Genipa americana*, *Dipteryx alata* Vog. e *Vitex cymosa* Bert., foram então, submetidos a técnica de microdiluição para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração microbicida mínima (CMM).

As análises de determinação da atividade antimicrobiana *in vitro* seguiram o modelo proposto pela Clinical Laboratory Standards Institute (2003), que consistiu em preparar o inóculo usando colônias mantidas em Ágar Mueller-Hinton para obtenção de suspensão bacteriana com turbidez equivalente a 0,5 na escala de MacFarland. A partir dessas suspensões, foram retiradas alíquotas de 10 µL para serem inoculadas em microplacas de acrílico com 96 poços contendo o caldo de enriquecimento e as diluições previamente estabelecidas dos extratos dos frutos, de acordo com a Tabela 1.

Optou-se por diluir os extratos dos frutos até a diluição de 1:64 devido as limitações dos micropipetadores disponíveis no laboratório.

Tabela 1 – Equivalência entre diluições, quantidades e concentrações dos extratos hidroalcoólicos dos frutos *Genipa americana*, *Dipteryx alata* e *Vitex cymosa* para o teste de microdiluição

Diluição	Quantidade de extrato (µl)*	Concentração dos extratos (mg/mL)		
		10%	20%	30%
1:1	100,00	10,00	20,00	30,00
1:2	50,00	5,00	10,00	15,00
1:4	25,00	2,50	5,00	7,50
1:8	12,5	1,25	2,50	3,75
1:16	6,25	0,62	1,25	1,88
1:32	3,00	0,30	0,62	0,94
1:64	1,50	0,15	0,30	0,47

*Quantidade de extrato pipetada em cada poço para teste de microdiluição.

A determinação da concentração microbicida mínima (CMM) foi determinada a partir da concentração inibitória mínima (CIM), dos poços das microplacas que não apresentaram crescimento bacteriano visível, retirou-se uma alíquota de 10µL com auxílio de micropipeta (Digipet) que foi semeada em superfície do Ágar Mueller-Hinton, incubada à 37°C por 24 horas para o cultivo bacteriano e 27°C/42h para o fungo *Candida albicans*.

Após o período de incubação, realizou-se a leitura considerando que a CMM foi a menor concentração do extrato que não permitiu nenhum crescimento celular na placa semeada, ou seja, ação bactericida (CLSI, 2002; 2003).

4.10 Análises Estatísticas

A análise estatística para comparação entre as médias dos halos de inibição das concentrações dos extratos hidroalcoólicos e entre as médias dos halos de inibição dos antimicrobianos foi realizada pelo teste paramétrico de ANOVA de uma via com pós-teste de Tukey. Para a comparação entre os halos de inibição dos antimicrobianos com a média dos halos de inibição dos extratos e para a comparação das médias dos halos dos antifúngicos foram feitas pelo teste paramétrico de t-Student através do programa GraphPadInStat Demo versão 3.0.

5 RESULTADOS

5.1 Teste de Difusão em Disco

5.1.1 Antibiograma e Antifungiograma

A média das quintuplicatas dos resultados dos halos de inibição obtidos no antibiograma dos fármacos cloranfenicol, azitromicina, penicilina, tetraciclina, gentamicina e vancomicina frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, e no antifungiograma dos fármacos fluconazol e nistatina frente ao fungo *Candida albicans*, estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2- Teste de difusão em disco dos padrões de antimicrobianos frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*.*

Antimicrobianos	Microrganismos			
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>C.albicans</i>
Cloranfenicol	9,17±0,31 ^{abcd}	10,83±0,31 ^{abcde}	2,17±0,31 ^{abcde}	-
Azitromicina	6,33±0,33 ^{aef}	5,33±0,33 ^{afghi}	6,67±0,21 ^{afghi}	-
Penicilina	13,67±0,3 ^{beghi}	0,33±0,21 ^{bfj}	0,17±0,17 ^{bfjk}	-
Tetraciclina	10,33±0,33 ^{fgjk}	0,17±0,17 ^{cgk}	3,83±0,17 ^{cgjlm}	-
Gentamicina	7,33±0,33 ^{chjl}	8,33±0,21 ^{dhjkl}	8,50±0,34 ^{dhkl}	-
Vancomicina	5,17±0,31 ^{dikl}	0,33±0,21 ^{eil}	0,33±0,21 ^{eim}	-
Fluconazol	-	-	-	0,33±0,21
Nistatina	-	-	-	4,83±0,31

*Médias das quintuplicatas dos halos de inibição em (mm) e erro padrão da média. As letras minúsculas iguais na mesma coluna diferem entre si (p<0,01) no teste de Tukey. (-) não se aplica

Em relação ao antibiograma aplicado no teste para o microrganismo *Staphylococcus aureus*, nota-se que os antibióticos penicilina, tetraciclina e cloranfenicol obtiveram os maiores halos de inibição e tiveram diferença estatística significativa com os demais antibióticos testados (p<0,001).

Para o microrganismo *Escherichia coli*, o teste aplicado mostrou que o antibiótico cloranfenicol obteve a média de maior halo de inibição e diferença

estatística significativa com os demais antibióticos testados ($p < 0,001$) no teste de Tukey.

O teste para a *Pseudomonas aeruginosa* mostrou que o antibiótico gentamicina obteve o maior halo de inibição e também diferença significativa com os demais antibióticos ($p < 0,001$) no teste de Tukey.

No antifungograma, o teste de t-Student aplicado frente ao microrganismo *Candida albicans* mostrou que houve diferença significativa entre os fármacos nistatina e fluconazol ($p < 0,0001$).

5.1.2 *Genipa americana* L.

Os resultados dos testes de difusão em disco referentes aos extratos hidroalcoólicos das partes do fruto de *Genipa americana* L. (Figura 11), estão descritos na Tabela 3, que mostra a média das quintuplicatas dos halos de inibição frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*.

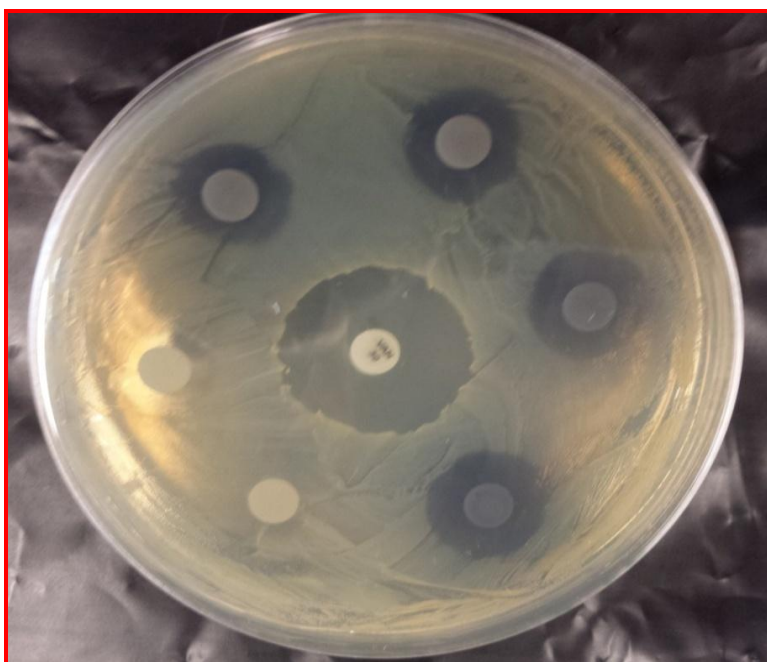


Figura 11 - Teste de difusão em disco com extrato de jenipapo.
Fonte: Fabíola Brandão dos Santos, 2014.

Tabela 3- Teste de difusão em disco dos extratos hidroalcoólicos de *Genipa americana* a 10%, 20% e 30% frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*.*

Extratos de <i>Genipa americana</i> L.	Microrganismos			
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>C.albicans</i>
Casca				
10%	3,33±0,36 ^a	1,17±0,17 ^a	1,17±0,17 ^{ab}	0,67±0,21
20%	3,33±0,21 ^b	1,50±0,22	1,67±0,21 ^a	0,67±0,21
30%	4,67±0,33 ^{ab}	2,33±0,33 ^a	1,67±0,21 ^b	1,17±0,17
Polpa				
10%	1,17±0,17 ^{cd}	1,17±0,17 ^{bc}	1,17±0,17 ^{cd}	0,50±0,22 ^a
20%	4,83±0,83 ^c	2,17±0,31 ^{bd}	1,83±0,17 ^c	1,17±0,17
30%	6,50±0,67 ^d	3,16±0,31 ^{cd}	2,67±0,33 ^d	1,50±0,34 ^a
Semente				
10%	1,50±0,22 ^e	1,17±0,17 ^e	0,33±0,21	0,33±0,21
20%	3,50±0,88	1,50±0,22 ^f	0,83±0,17	0,67±0,21
30%	4,33±0,80 ^e	3,00±0,36 ^{ef}	0,83±0,17	1,17±0,17

*Médias das quintuplicatas dos halos de inibição em (mm) e erro padrão da média. As letras minúsculas iguais na mesma coluna diferem entre si $p<0.05$ no pós teste de Tukey.

No teste para o microrganismo *Staphylococcus aureus*, nota-se que todos os extratos apresentaram halos de inibição sendo o maior destes provenientes do extrato da polpa a 30% que teve diferença estatística significativa com o extrato da polpa a 10% ($p<0,001$).

O teste para o microrganismo *Escherichia coli* mostrou que o maior halo de inibição também foi proveniente do extrato da polpa a 30% e este teve diferença significativa em relação ao extrato da polpa a 10% ($p<0,001$) e com o extrato da polpa a 20% ($p<0,05$).

Em relação ao teste para *Pseudomonas aeruginosa*, nota-se que o extrato da polpa a 30% do jenipapo apresentou o maior halo de inibição e teve diferença significativa com o extrato da polpa a 10% ($p<0,001$) no pós-teste de Tukey.

A única diferença estatística significativa no teste para *Candida albicans* foi entre o extrato da polpa a 30%, que apresentou maior halo de inibição, com o extrato da polpa a 10% ($p<0,05$).

5.1.3 *Dipteryx alata* Vog.

As médias das quintuplicatas dos halos de inibição dos extratos hidroalcoólicos das partes do fruto *Dipteryx alata* Vog. (Figura 12) estão descritas na

Tabela 4, frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*.

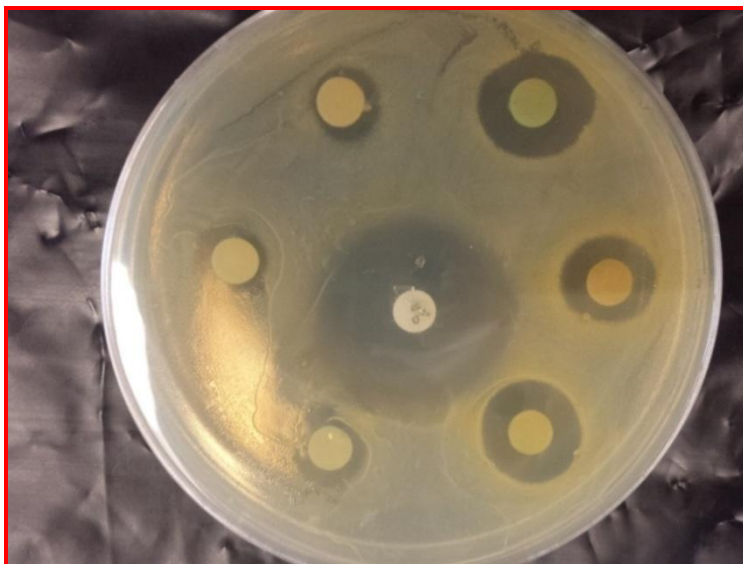


Figura 12 - Teste de difusão em disco com extrato de baru
Fonte: Fabíola Brandão dos Santos, 2014.

Tabela 4- Teste de difusão em disco dos extratos hidroalcoólicos de *Dipteryx alata* Vog. a 10%, 20% e 30% frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*.*

Extratos de <i>Dipteryx alata</i> Vog.	Microrganismos			
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>C.albicans</i>
Casca				
10%	3,33±0,33	0,17±0,17 ^{ab}	0,17±0,17 ^a	0,17±0,17
20%	3,17±0,31	1,50±0,22 ^{ac}	0,67±0,21	0,17±0,17
30%	2,67±0,21	3,00±0,37 ^{bc}	1,17±0,17 ^a	0,17±0,17
Polpa				
10%	4,00±0,45	0,17±0,17	1,17±0,17	0,17±0,17 ^a
20%	4,00±0,26	0,17±0,17	1,17±0,17	0,67±0,21
30%	4,50±0,22	0,17±0,17	1,17±0,17	1,17±0,17 ^a
Semente				
10%	0,33±0,21	0,17±0,17	0,17±0,17	0,67±0,21 ^b
20%	0,50±0,22	0,17±0,17	0,17±0,17	1,17±0,17
30%	0,67±0,21	0,17±0,17	0,17±0,17	1,67±0,21 ^b

*Médias das quintuplicatas dos halos de inibição em (mm) e erro padrão da média. As letras minúsculas iguais na mesma coluna diferem entre si $p < 0.05$ no pós teste de Tukey.

Não houve diferença estatística significativa entre os extratos da casca, entre os da polpa e entre todos os extratos da semente no teste para *Staphylococcus aureus* ($p > 0,05$) no teste ANOVA de uma via.

Houve diferença significativa entre os extratos da casca a 30% e a 10% do baru ($p<0,001$) e com o extrato da casca a 20% ($p<0,01$) no teste para *Escherichia coli* de acordo com o pós-teste de Tukey.

No teste para *Pseudomonas aeruginosa*, houve diferença significativa somente entre os extratos da casca a 10% com o extrato da casca a 30% ($p<0,01$) no pós-teste de Tukey.

Para o microrganismo *Candida albicans*, houve diferença significativa entre os extratos da polpa a 10% com a polpa a 30% ($p<0,01$) e entre os extratos da semente a 10% com o extrato da semente a 30% ($p<0,01$) no pós-teste de Tukey.

5.1.4 *Vitex cymosa* Bert.

A média das quintuplicatas dos halos de inibição do teste de difusão de disco com os extratos hidroalcoólicos das partes do fruto de *Vitex cymosa* Bert. (Figura 13) frente aos microrganismos estão descritos na Tabela 5.



Figura 13 - Teste de Difusão em disco com extrato de tarumã
Fonte: Fabíola Brandão dos Santos, 2014.

Tabela 5- Teste de difusão em disco dos extratos hidroalcoólicos de *Vitex cymosa* Bert., a 10%, 20% e 30% frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*.*

Extratos de <i>Vitex cymosa</i> Bert.	Microrganismos			
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>C.albicans</i>
Casca				
10%	1,17±0,17 ^a	0,17±0,17 ^a	1,67±0,21	0,17±0,17 ^a
20%	1,17±0,17 ^b	0,17±0,17 ^b	1,67±0,21	0,17±0,17 ^b
30%	2,50±0,43 ^{ab}	1,17±0,17 ^{ab}	2,17±0,17	1,17±0,17 ^{ab}
Polpa				
10%	2,50±0,43 ^c	0,17±0,17	1,17±0,17	0,17±0,17
20%	4,00±0,58	0,17±0,17	1,17±0,17	0,17±0,17
30%	5,00±0,37 ^c	0,17±0,17	1,17±0,17	0,17±0,17
Semente				
10%	0,17±0,17 ^{de}	0,17±0,17	1,17±0,17 ^a	0,17±0,17 ^{cd}
20%	1,50±0,22 ^{df}	0,17±0,17	1,50±0,22	1,00±0,26 ^c
30%	4,00±0,37 ^{ef}	0,17±0,17	2,17±0,17 ^a	1,67±0,21 ^d

*Médias das quintuplicatas dos halos de inibição em (mm) e erro padrão da média. As letras minúsculas iguais na mesma coluna diferem entre si $p<0.05$ no pós teste de Tukey.

No teste para o microrganismo *Staphylococcus aureus*, o maior halo de inibição foi proveniente do extrato da polpa a 30%, que mostrou diferença significativa com o extrato da polpa a 10% ($p<0,01$) no pós-teste de Tukey.

Em relação a bactéria *Escherichia coli*, houve diferença significativa somente entre os extratos da casca de tarumã a 30% com o 10% ($p<0,01$) e com o extrato da casca a 20% ($p<0,01$), no pós-teste de Tukey.

Houve diferença estatística significativa entre os extratos da semente a 10% e a 30% ($p<0,01$) no teste para *Pseudomonas aeruginosa*.

O teste para *Candida albicans*, mostrou que os extratos da polpa não tiveram diferença significativa entre si ($p>0,05$), ao contrário dos resultados obtidos com os extratos da casca e da semente.

5.1.5 Análise Comparativa entre os Frutos

5.1.5.1 *Staphylococcus aureus*

A análise comparativa entre os extratos das cascas a 10% dos frutos mostrou que há diferença significativa entre os extratos de jenipapo e tarumã ($p<0,001$) e entre baru e tarumã ($p<0,001$), do mesmo modo ocorreu com os extratos da casca a 20%. Enquanto que nos extratos da casca a 30%, a diferença significativa foi entre os extratos de jenipapo e baru ($p<0,01$) e entre os extratos de jenipapo e tarumã ($p<0,01$).

Em relação aos extratos das polpas dos frutos, os extratos a 10% tiveram diferença estatística significativa entre os frutos jenipapo e baru ($p<0,001$), jenipapo e tarumã ($p<0,05$) e entre baru e tarumã ($p<0,05$), porém estas diferenças não foram observadas entre os extratos da polpa a 20%. Para os extratos a 30%, houve diferença somente entre os de jenipapo e de baru ($p<0,05$).

A análise dos extratos das sementes mostrou que houve diferença significativa entre os frutos jenipapo e baru ($p<0,01$) e entre jenipapo e tarumã ($p<0,001$) a 10%, do mesmo modo ocorreu com os extratos a 20%. Porém, para os extratos a 30%, houve diferença entre o jenipapo e o baru ($p<0,001$) e entre o baru e o tarumã ($p<0,01$).

5.1.5.2 *Escherichia coli*

A análise comparativa entre os extratos das cascas a 10% dos frutos mostrou que houve diferença significativa entre os extratos de jenipapo e baru ($p<0,05$) e entre jenipapo e tarumã ($p<0,05$), no entanto, com os extratos das cascas a 20% houve diferença entre os de jenipapo e de tarumã ($p<0,01$) e entre os de baru e de tarumã ($p<0,01$), do mesmo modo foi observado com os extratos da casca a 30%.

Em relação à comparação dos extratos nas três concentrações das polpas dos frutos houve diferença significativa entre os de jenipapo e de baru ($p<0,05$), e jenipapo e tarumã ($p<0,05$).

A análise dos extratos nas concentrações das sementes dos frutos revelou que houve diferença significativa entre os de jenipapo e de baru ($p<0,05$) e jenipapo e tarumã ($p<0,05$).

5.1.5.3 *Pseudomonas aeruginosa*

A comparação entre os extratos da casca a 10% dos frutos mostrou que houve diferença significativa entre o jenipapo e o tarumã ($p < 0,05$) e entre o baru e o tarumã ($p < 0,001$), enquanto que os extratos da casca a 20% tiveram diferença significativa entre os de jenipapo e de baru ($p < 0,05$), e de baru com o de tarumã ($p < 0,05$). Houve diferença entre os extratos a 30% do baru com o do tarumã ($p < 0,01$).

Não houve diferença estatística entre os extratos da polpa dos frutos a 10%, mas, em relação aos extratos a 20 e a 30% houve diferença entre o de jenipapo e de baru ($p < 0,05$) e entre jenipapo e tarumã ($p < 0,05$).

A análise dos extratos das sementes mostrou diferença significativa entre os extratos a 10% dos frutos jenipapo e tarumã ($p < 0,05$) e entre baru e tarumã ($p < 0,01$). Com os extratos a 20% houve diferença entre o baru e o tarumã ($p < 0,001$), e para os extratos a 30% houve diferença entre os de jenipapo e de baru ($p < 0,05$), jenipapo e tarumã ($p < 0,001$) e entre baru e tarumã ($p < 0,001$).

5.1.5.4 *Candida albicans*

A análise comparativa entre os extratos das cascas a 10 e a 20% mostrou que não houve diferença significativa entre os extratos dos frutos ($p > 0,05$), porém houve diferença significativa nos de concentração da casca a 30% do jenipapo e do baru ($p < 0,01$), e baru e tarumã ($p < 0,01$).

Não houve diferença significativa entre os extratos das polpas dos frutos a 10% ($p > 0,05$), no entanto, houve diferença entre os da polpa a 20% de jenipapo e tarumã ($p < 0,01$), e para os extratos a 30%, houve diferença entre o de jenipapo e tarumã ($p < 0,01$) e baru e tarumã ($p < 0,05$).

Não houve diferença significativa entre todas as concentrações dos extratos das sementes dos frutos.

5.1.6 Análise Comparativa entre os Extratos e os Antimicrobianos

5.1.6.1 *Staphylococcus aureus*

Houve diferença significativa entre todos os extratos dos frutos e os antibióticos cloranfenicol, penicilina e tetraciclina ($p < 0,05$).

Não houve diferença entre azitromicina e o extrato da polpa de jenipapo a 20% ($p = 0,1256$) e com o extrato a 30% da polpa do mesmo fruto ($p = 0,8284$) no teste t-Student, mas, para os demais extratos houve diferença significativa ($p < 0,05$).

Não houve diferença entre o antibiótico gentamicina e o extrato da polpa a 30% de *Genipa americana* L. ($p = 0,2920$), porém, para os demais extratos houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) no teste t-Student.

Não houve diferença significativa entre o antibiótico vancomicina e os extratos de jenipapo, casca a 30% ($p = 0,2959$), polpa a 20% ($p = 0,7153$) e 30% ($p = 0,1009$), semente a 20% ($p = 0,1056$) e a 30% ($p = 0,3552$); da polpa de baru 30% ($p = 0,1099$) e a 20% ($p = 0,1048$), e da polpa de tarumã a 30% ($p = 0,7342$).

5.1.6.2 *Escherichia coli*

No teste de comparação de médias t-Student, houve diferença significativa entre todos os extratos dos frutos e os antimicrobianos cloranfenicol, azitromicina e gentamicina ($p < 0,05$).

Não houve diferença significativa entre os antibióticos penicilina e vancomicina com os extratos da casca a 10%, todos os extratos da polpa e da semente do baru, da casca a 10 e 20% do tarumã, todos os extratos da polpa e da semente do mesmo fruto ($p = 0,5490$), porém houve diferença significativa com os demais extratos ($p < 0,05$).

Em relação ao antibiótico tetraciclina, não houve diferença significativa com os extratos da casca a 10%, todos os extratos da polpa e da semente do baru; da casca a 10 e 20%, todos os extratos da polpa e da semente de tarumã ($p > 0,9999$), mas há diferença significativa entre este antibiótico e os demais extratos ($p < 0,05$).

5.1.6.3 *Pseudomonas aeruginosa*

No teste de comparação de médias t-Student, houve diferença significativa entre todos os extratos dos frutos e os antimicrobianos, azitromicina, tetraciclina e gentamicina ($p < 0,05$).

Não houve diferença significativa entre o cloranfenicol e o extrato da casca a 20 e 30% ($p = 0,2094$), da polpa a 20% ($p = 0,3628$) e a 30% de jenipapo ($p = 0,2959$); da casca 10%, 20% ($p = 0,2094$) e a 30% ($p > 0,9999$), da semente a 20% ($p = 0,1099$) e a 30% do tarumã ($p > 0,9999$), contudo, houve diferença significativa entre este fármaco e os demais extratos ($p < 0,05$).

Não houve diferença estatística significativa entre penicilina e os extratos da semente de jenipapo a 10% ($p = 0,5490$); casca a 10% e todos os extratos da semente ($p > 0,9999$) e o extrato da casca a 20% do baru ($p = 0,0924$).

5.1.6.4 *Candida albicans*

No teste de comparação de médias t-Student, houve diferença significativa entre todos os extratos dos frutos e o antifúngico nistatina ($p < 0,001$).

Não houve diferença significativa entre o fluconazol e os extratos da casca a 10 e 20% ($p = 0,2897$), polpa a 10% ($p = 0,5995$), semente a 10% ($p > 0,9999$) e a 20% do jenipapo ($p = 0,2897$).

Do mesmo modo que não houve diferença entre este fármaco e todos extratos da casca, polpa a 10% ($p = 0,5490$), polpa a 20% e semente a 10% do fruto do baru ($p = 0,2897$); da casca a 10 e 20%, da semente a 10% e todos os extratos da polpa do tarumã ($p = 0,5490$).

5.3 Teste de Microdiluição

5.2.1 *Genipa americana* L.

Os resultados de concentração inibitória mínima e de concentração microbicida mínima referentes ao teste de microdiluição estão descritos na Tabela 6 e mostrados na Figura 14.

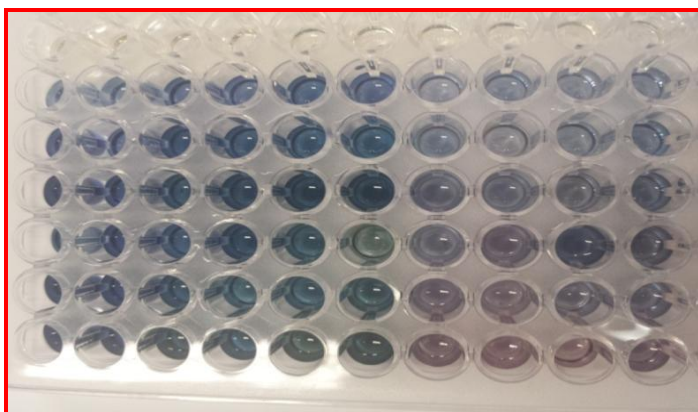


Figura 14 - Microdiluição com extrato de jenipapo
Fonte: Fabíola Brandão dos Santos, 2014.

Tabela 6- Teste de microdiluição dos extratos hidroalcoólicos de *Genipa americana*, a 10%, 20% e 30% frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*.*

Extratos de <i>Genipa americana</i>	<i>S. aureus</i>		<i>E.coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>C. albicans</i>	
	CIM	CMM	CIM	CMM	CIM	CMM	CIM	CMM
Casca								
10%	1:64	1:32	1:64	1:64	1:64	1:64	1:64	1:64
20%	1:64	1:32	1:64	1:64	1:64	1:64	1:64	1:64
30%	1:64	1:32	1:64	1:64	1:64	1:64	1:64	1:64
Polpa								
10%	1:64	1:32	1:32	1:32	1:64	1:32	1:64	1:64
20%	1:64	1:32	1:32	1:32	1:64	1:32	1:64	1:64
30%	1:64	1:32	1:32	1:32	1:64	1:32	1:64	1:64
Semente								
10%	1:64	1:64	1:16	1:16	1:64	1:32	1:64	1:32
20%	1:64	1:64	1:32	1:32	1:64	1:32	1:64	1:32
30%	1:64	1:64	1:32	1:32	1:64	1:32	1:64	1:32

*Médias das triplicatas das diluições sem crescimento detectável nas microplacas (Concentração inibitória Mínima - CIM) e nas placas de Petri (Concentração Microbicida Mínima - CMM).

De um modo geral observa-se que todos os extratos apresentaram CIM e CMM para os microrganismos testados, variando as diluições de 1:16 até 1:64.

5.2.2 *Dipteryx alata* Vog.

A Tabela 7 mostra os valores correspondentes aos testes de microdiluição para determinar a concentração inibitória mínima e a concentração microbicida mínima dos extratos de *Dipteryx alata* vog, apresentados na Figura 15.

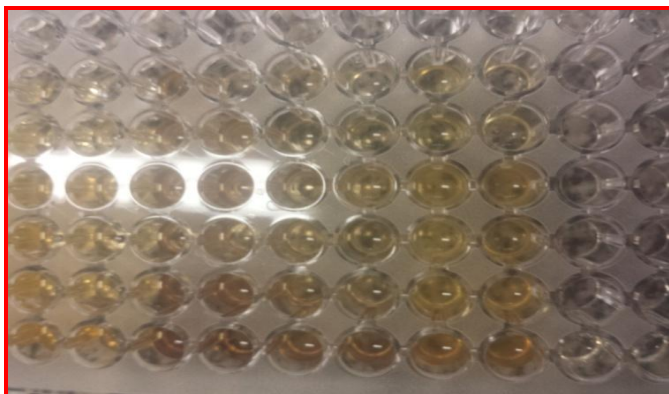


Figura 15 - Microdiluição com extrato de baru.

Fonte: Fabíola Brandão dos Santos, 2014.

Tabela 7- Teste de microdiluição dos extratos hidroalcoólicos de *Dipteryx alata* Vog, a 10%, 20% e 30% frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*.*

Extratos de <i>Dipteryx alata</i> Vog.	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>C. albicans</i>	
	CIM	CMM	CIM	CMM	CIM	CMM	CIM	CMM
Casca								
10%	1:16	1:16	-	-	-	-	-	-
20%	1:16	1:16	1:4	1:4	-	-	-	-
30%	1:16	1:16	1:4	1:4	-	-	-	-
Polpa								
10%	1:16	1:16	-	-	-	-	-	-
20%	1:16	1:16	-	-	-	-	-	-
30%	1:16	1:16	-	-	-	-	-	-
Semente								
10%	1:16	1:16	-	-	-	-	-	-
20%	1:16	1:16	-	-	-	-	1:16	1:4
30%	1:16	1:16	-	-	-	-	1:16	1:4

*Médias das triplicatas das diluições sem crescimento detectável nas microplacas (Concentração inibitória Mínima - CIM) e nas placas de Petri (Concentração Microbicida Mínima - CMM).

No teste de microdiluição para o microrganismo *Staphylococcus aureus* observou-se que todos os extratos obtiveram CIM e CMM de diluição 1:16. Para o microrganismo *Escherichia coli*, somente os extratos da casca a 20 e a 30% apresentaram CIM e CMM. Porém, não foram observados CIM e CMM dos extratos do baru para *Pseudomonas aeruginosa*.

Em relação ao teste frente ao microrganismo *Candida albicans*, somente os extratos da semente a 20 e 30% apresentaram CIM e CMM.

5.2.3 *Vitex cymosa* Bert.

Com relação aos extratos hidroalcoólicos do fruto *Vitex cymosa*, os resultados para os testes de microdiluição estão descritos na Tabela 8 e mostrados na Figura 16.

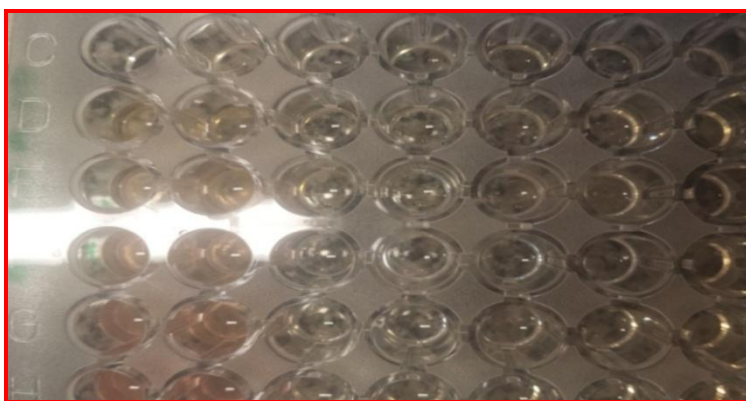


Figura 16 - Teste de Microdiluição com extrato de tarumã
Fonte: Fabíola Brandão dos Santos, 2014.

Tabela 8- Teste de microdiluição dos extratos hidroalcoólicos de *Vitex cymosa* Bert., a 10%, 20% e 30% frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*.*

Extratos de <i>Vitex cymosa</i> Bert.	<i>S. aureus</i>		<i>E.coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>C. albicans</i>	
	CIM	CMM	CIM	CMM	CIM	CMM	CIM	CMM
Casca								
10%	1:4	-	-	-	1:64	1:16	-	-
20%	1:4	1:2	-	-	1:64	1:16	-	-
30%	1:16	1:2	1:4	1:4	1:64	1:16	-	-
Polpa								
10%	1:16	1:2	-	-	1:64	1:16	-	-
20%	1:32	1:2	-	-	1:64	1:32	-	-
30%	1:32	1:2	-	-	1:64	1:32	-	-
Semente								
10%	1:4	-	-	-	1:1	-	-	-
20%	1:32	1:16	-	-	1:1	-	-	-
30%	1:32	1:32	-	-	1:1	-	-	-

*Médias das triplicatas das diluições sem crescimento detectável nas microplacas (Concentração inibitória Mínima - CIM) e nas placas de Petri (Concentração Microbicida Mínima - CMM).

No teste para *Staphylococcus aureus* observou-se que todos os extratos obtiveram CIM, porém não foram observados CMM para os extratos da casca e da semente a 10%.

Em relação ao microrganismo *Escherichia coli*, só foi encontrado CIM e CMM para o extrato da casca a 30%. Houve CIM de todos os extratos do tarumã para *Pseudomonas aeruginosa* mas não foram observados CMM dos extratos da semente. Não foram encontrados CIM e CMM para o microrganismo *Candida albicans*.

6 DISCUSSÃO

O extrato da polpa de *Genipa americana* L. a 30% foi o que apresentou maiores halos de inibição em relação aos outros extratos do mesmo fruto para todos os microrganismos testados, principalmente para *Staphylococcus aureus*, diferentes dos halos obtidos da polpa e da semente a 10% que foram os menores halos de inibição para esse microrganismo. Em relação aos demais microrganismos, os extratos a 10% apresentaram halos do mesmo tamanho para *Escherichia coli*, os extratos da polpa a 20 e 30% foram melhor para *Pseudomonas aeruginosa* e não houve muita diferença entre os extratos no teste de *Candida albicans*.

Os extratos do *Dipteryx alata* Vog. apresentaram resultados satisfatórios nos testes de difusão em disco, sendo que os da polpa tiveram maiores halos de inibição para *Staphylococcus aureus*, os da casca a 20 e 30% foram melhores para *Escherichia coli* e para *Pseudomonas aeruginosa*, e os extratos da semente 20 e 30% foram discretamente superiores no teste de *Candida albicans*.

Os extratos de *Vitex cymosa* Bert. tiveram bons resultados no teste de difusão em disco, os extratos da polpa e da semente a 30% apresentaram maiores halos de inibição para *Staphylococcus aureus*, não foi observada diferença entre os extratos para *Escherichia coli*, os extratos da casca e da semente a 30% foram discretamente superiores para *Pseudomonas aeruginosa* e não houve diferença entre os extratos para o teste de *Candida albicans*.

De um modo geral, no teste para *Staphylococcus aureus*, todos os extratos das polpas dos frutos tiveram resultados satisfatórios, com halos de inibição semelhantes, em torno de 4mm. Enquanto que para *Escherichia coli*, os extratos que se destacaram foram o da polpa e da semente a 30% de jenipapo e da casca do baru 30%.

No teste para *Pseudomonas aeruginosa*, os extratos que se destacaram foram os da polpa a 20 e 30% de jenipapo e os da casca e da semente a 30% do tarumã. Em relação ao teste de *Candida albicans*, praticamente todos os extratos tiveram valores semelhantes, não sendo observados valores mais significativos.

No teste de microdiluição, todos os extratos de jenipapo apresentaram concentração inibitória mínima e microbicida mínima para os microrganismos testados em diluições consideradas satisfatórias. Enquanto que para os extratos do

baru, de um modo geral houve CIM e CMM para todos os microrganismos exceto *Pseudomonas aeruginosa*. Já o tarumã, apresentou CIM e CMM para todos os microrganismos, exceto para *Candida albicans*.

As variações obtidas nos testes da pesquisa podem ser devido à presença de determinados compostos bioativos. Cada fruto pertence a uma família diferente, assim, concentram teores de metabólitos secundários em maiores ou menores concentrações, ou ainda, podem conter substâncias diferentes particulares de cada fruto.

Como descrito anteriormente, o jenipapo contém substâncias como ácidos genípico, genipínico, geniposídeos, ácido geniposídico e jenipapina, sendo os dois primeiros, considerados de acordo com Gottlieb & Mors (1980), responsáveis pela atividade antimicrobiana. Além desses compostos a planta apresenta iridóides que são responsáveis pelo efeito protetor da planta e taninos que dão a característica de adstringência (ABRÃO, 2010).

O baru possui muito componentes, tanto nutricionais como o alfa-tocoferol e ácidos graxos (TAKEMOTO et al., 2001), como também inúmeros compostos fitoquímicos que são tripterpenos do tipo lupano, isoflavonas, chalcona, aurona e compostos fenólicos (PUEBLA et al., 2010). Muitos destes compostos são responsáveis pela atividade antimicrobiana e antioxidante do fruto.

O tarumã também é rico em vários componentes químicos, tais como o tarumal, viteóide II e agnusídeo, conforme Santos et al. (2001), além disso, contém aldeídos, butanolidos e esterres de ácidos graxos, lactonas como a gama-octolactona e gama-decalactona, compostos estes que estão envolvidos na função de atividade antimicrobiana do fruto; porém, não foram observados compostos terpenóides (FONSECA et al. 2006)

Na análise comparativa dos extratos com os antimicrobianos foram observadas muitas similaridades entre alguns extratos dos frutos e agentes antimicrobianos importantes para o tratamento de infecções causadas pelos microrganismos testados, as quais foram relatadas anteriormente.

Para o microrganismo *Staphylococcus aureus*, observou-se que os extratos de jenipapo, em especial de sua polpa, foram similares aos antibióticos azitromicina, gentamicina e vancomicina. Outros extratos que se destacaram foram da polpa do baru e do tarumã, que foram similares a vancomicina.

Os extratos do baru e do tarumã tiveram semelhanças com os antibióticos penicilina, vancomicina e tetraciclina, no teste para *Escherichia coli*, porém acredita-se que alguns extratos de jenipapo por apresentarem halos de inibição maiores que os observados por esses antibióticos, tiveram diferença significativa com eles.

No teste para *Pseudomonas aeruginosa*, houve similaridade entre alguns extratos de jenipapo e do tarumã com o antibiótico cloranfenicol. A similaridade de halos de inibição pode ser um começo para novos testes de potencial farmacológico e perfil toxicológico dos extratos. O cloranfenicol é um fármaco potencialmente tóxico, se forem encontradas alternativas de terapia com mesma eficácia terapêutica que o mesmo com menor efeito colateral, seria viável a elaboração de um novo medicamento com o extrato.

Em relação ao teste para *Candida albicans*, houve similaridade entre os halos de inibição do fluconazol com vários extratos de jenipapo, baru e tarumã, sugerindo boa atividade antifúngica, uma vez que trata-se de um fármaco que atua de forma sistêmica, porém tem grande potencial para efeitos colaterais.

Vasconcelos-Junior et al. (2012) obtiveram CIM da anfotericina B menor que 0,1 µg/mL e o fluconazol um valor médio de 0,37 µg/mL frente ao fungo *Candida albicans*; os extratos da polpa, casca e semente de *Genipa americana* a 10% foram os que apresentaram menor valor de concentração (150 µg/mL), valor este muito superior ao encontrado para os antifúngicos sistêmicos.

Alves, Camargo & Goulart (2010) relataram a CIM dos antifúngicos anfotericina B (0,25 µg/mL), do fluconazol (4µg/mL) e do voriconazol (0,125 µg/mL) frente a *Candida albicans*, enquanto que os extratos a 10% das partes de *Genipa americana* apresentaram concentração inibitória mínima de 150 µg/ml (1:64), ou seja, o valor encontrado na presente pesquisa é muito superior em relação aos obtidos com os antifúngicos sistêmicos.

Há uma grande variedade de pesquisas envolvendo o uso de material vegetal com o objetivo de avaliar a possibilidade da presença de atividade antimicrobiana e fornecer subsídios para que outros estudos possam ser realizados visando o desenvolvimento de novos agentes farmacológicos.

A pesquisa realizada por Fernandes, Santos & Pimenta (2005), com as plantas do cerrado *Plathymenia reticulata* (vinhático) e *Guazuma ulmifolia* (mutamba) e *Hymenaea courbaril* (jatobá), obtiveram halos para diversos microrganismos dentre eles, para *Staphylococcus aureus* (superiores a 14 mm) e *Pseudomonas aeruginosa*.

(6mm) e ausência de atividade para o jatobá frente a esta bactéria. Os maiores halos de inibição encontrados para estes microrganismos foram provenientes do extrato da polpa de *Genipa americana* a 30%. Apesar de apresentarem compostos bioativos semelhantes, como taninos e terpenos, essas quantidades devem ser variáveis em cada espécie testada, justificando os diferentes valores encontrados.

Degáspari, Waszczynskyj & Prado (2005) pesquisaram extratos alcoólicos de *Schinus terebenthifolius* Raddi (aroeira vermelha) e não obtiveram halos para *Candida albicans* e *Pseudomonas aeruginosa*, diferente dos resultados com e os extratos de *Genipa americana* cujo os halos de inibição variaram de 0,33 mm a 2,67 mm para estes microrganismos.

O extrato alcoólico do fruto de *Genipa americana* L. elaborado por Batista (2008) inibiu o crescimento de *Escherichia coli* com halo de inibição entre 10 a 15 mm e CIM 1000 mg/mL, enquanto que o maior halo obtido com o extrato hidroalcoólico do mesmo fruto foi de 3,16mm e a menor CIM foi de 0,15mg/mL para este microrganismo. Esta diferença pode ser devido a não separação entre casca, polpa e semente do fruto e/ou ao método de obtenção dos extratos, uma vez que eles foram diferentes.

Trindade, Fonseca & Juiz (2009), relataram que o extrato hidroalcoólico a 20% de romã (*Punica granatum*) mostrou halo de inibição médio de 11 mm para o *Staphylococcus aureus*, valor este superior ao maior valor médio obtido no extrato hidroalcoólico da polpa do jenipapo na mesma concentração (20%) contra este microrganismo (4,83 mm). No entanto, as plantas alecrim-pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e o farelo da casca do pequi não apresentaram halos inibição para *Escherichia coli* (PINHO et al., 2012), diferindo dos resultados obtidos com os extratos de *Genipa americana*. Estas diferenças de resultados podem indicar a variação de compostos ativos presentes em cada planta, bem como o método de extração dos princípios ativos

A pesquisa de Silva-Junior et al. (2009) mostrou que os extratos etanólicos das sementes de *B. virgilioides* (sucupira preta) e da planta *C. brasiliense* (guanandi), apresentaram CIM superiores a 1000 µg/mL para *Escherichia coli*, resultado semelhante a esse foi encontrado com o extrato da semente a 30% de *Genipa americana* (CIM de 940 µg/mL).

Os taninos isolados das folhas de *Anacardium humile* por Ferreira et al. (2012) mostraram CIM de 500µg/mL para o *Staphylococcus aureus*. O valor

semelhante a este foi encontrado com todos os extratos a 30% de jenipapo (470 µg/mL), esta semelhança entre as CIM pode ser devido a presença de taninos na composição do fruto.

Resultados obtidos com o extrato hidroalcoólico de *Morus nigra*, indicaram CIM e CMM de 4,88mg/mL para *Escherichia coli* e de 1250 mg/mL para *Pseudomonas aeruginosa* (SANTOS et al., 2013), os quais são superiores aos encontrados nos extratos hidroalcoólicos das cascas a 10% de *Genipa americana* L. para os dois microrganismos (0,15 mg/mL).

Pinheiro et al. (2014) obtiveram CIM para *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* de 1:2 do alho *in natura*, 1:4 da pasta de alho e do alho desidratado, e para *Candida albicans* foi encontrado CIM 1:4 para o alho *in natura* e para a versão desidratada do mesmo, estes são valores inferiores aos dos extratos da casca de *Genipa americana* com CIM de 1:64 para esses três microrganismos.

Na pesquisa realizada por Fazio, et al. (2014) a espécie *Hylocerus undatus* (pitaya vermelha com polpa branca) não mostrou halo de inibição para *Staphylococcus aureus*, e a espécie *Vaccinium myrtillus* (mirtilo) teve halo de inibição para esta bactéria de 8 mm, valor superior ao encontrado para o extrato hidroalcoólico da polpa de jenipapo a 30% (6,5mm).

O estudo com óleos dos frutos de pequi SOARES (2014), encontrou CIM e CMM respectivamente para *Staphylococcus aureus* de 78,1 µg/mL e 312,7µg/mL e para *Pseudomonas aeruginosa* de 315,6 µg/mL 625,0 µg/mL. Os menores valores encontrados de CIM e CMM foram provenientes dos extratos a 10% de *Genipa americana* L (150µg/mL).

Embora pertencentes ao mesmo gênero, o extrato hexânico da casca dos frutos de *Dipteryx lacunifera* (castanha de burro) estudado por Ayres et al. (2008) não apresentou halos de inibição frente a *Escherichia coli* e a *Pseudomonas aeruginosa* como os que foram encontrados com o extrato da casca do baru, indicando que pode existir diferenças na composição das espécies.

Silva et al. (2007a) pesquisando o extrato hidroalcoólico de *Anacardium occidentale* (caju) encontraram CIM de 1:16 frente ao *Staphylococcus aureus*, resultado idêntido ao obtido com os extratos hidroalcoólicos das partes do fruto de *Dipteryx alata* (baru).

Dutra et al. (2009), testaram a atividade antimicrobiana do óleo essencial das sementes de sucupira branca e não encontraram halos de inibição para *Candida*

albicans, ao contrário do observado com os extratos da semente de *Dipteryx alata* (1,17 mm). Já o extrato bruto etanólico do baru, preparado por Novaes e Yano (2010) apresentou halo de inibição para o *Staphylococcus aureus* (1,3 mm) e ausência de halo para o extrato aquoso, contrariando esta pesquisa, cujo extrato da polpa a 30% do baru apresentou halo de 4,50 mm. Estas diferenças devem estar relacionadas ao tipo de extração dos compostos pois os três tipos de extratos, os dois da pesquisa mencionada acima e o do presente estudo, mostraram valores diferentes e o mais eficaz foi o extrato hidroalcoólico.

Comparando-se os halos de inibição encontrados para os extratos hidroalcoólicos da casca do baru a 30% (2,67 mm) e de *Ilex paraguayensis* com concentração 250mg/mL (3 mm) frente ao *Staphylococcus aureus* (BITTENCOURT-JUNIOR et al., 2012), observa-se a similaridade de valores, provavelmente devido ao fato destas plantas serem ricas em flavonóides e terpenóides, justificando assim a atividade antimicrobiana de ambos os extratos.

A atividade antimicrobiana do extrato de do chá de *Ayahuasca*, Santo-Daime (300 mg/mL), estudada por Lima e Coelho (2013), mostrou halo de inibição de 2,53 mm para *Escherichia coli*, resultado semelhante ao encontrado no teste com o extrato da casca a 30% de *Dipteryx alata* Vog. (3,0 mm).

SOARES (2014) trabalhando com óleos dos frutos de baru, encontrou a CIM e a CMM para *Staphylococcus aureus* de 76,3 µg/mL e 310,7 µg/mL, e para *Pseudomonas aeruginosa* de 314,7 µg/mL e 623,3 µg/mL, respectivamente. Na presente pesquisa, o menor valor da CIM e da CMM para o *Staphylococcus aureus* a foi de 620 µg/mL, porém não foram observados CIM e CMM para *Pseudomonas aeruginosa*. Essas diferenças de resultados podem estar relacionadas com os tipos de extratos estudados e também com a origem dos frutos.

Pesquisando óleo essencial de *Vitex cymosa* Bert. (tarumã), Fonseca et al. (2006) encontraram halos de inibição de 1,5 mm para *Candida albicans* e de 1,00 mm para *Staphylococcus aureus*, diferentes dos valores obtidos no extrato hidroalcoólico da semente a 30%, 1,67 mm e 5,00 mm, respectivamente. Considerando que se tratam de diferentes extratos oriundos da mesma matéria prima, esses resultados indicam existência de diferentes concentrações de compostos com atividade antimicrobiana e sugerem melhor eficácia na extração hidroalcoólica desses compostos.

Ao se considerar pesquisa com óleos essenciais de plantas brasileiras, Cavalcanti et al. (2012) obtiveram os seguintes halos de inibição para *Candida albicans*: *Citrus aurantium* 14,5mm, *Citrus limon* 9,0 mm, *Citrus reticulata* 11,5 mm e *Campomanesia xanthocarpa* 20,0 mm, os quais são muito superiores aos encontrados neste estudo, onde o maior halo para *Candida albicans* foi 1,67 mm, proveniente das sementes de *Vitex cymosa*

Sadiq et al. (2012), estudando extratos etanólicos de *Cassia Occidentalis* (fedegoso) encontraram halo de inibição para *Pseudomonas aeruginosa* de 7mm, valor este superior aos dos extratos hidroalcoólicos da casca a 30% e da semente a 30% de *Vitex cymosa* Bert. (2,17 mm), indicando a presença de diferentes compostos bioativos com atividade antimicrobiana.

O extrato hidroalcoólico de romã (*Punica granatum*) a 20% teve CIM de 1:8 frente ao *Staphylococcus aureus*, que foi inferior ao encontrado para polpa de *Vitex cymosa* Bert. (1:32) (TRINDADE, FONSECA & JUIZ, 2009). Já a pesquisa com óleos dos frutos de buriti apresentaram CIM e CMM, respectivamente, para *Staphylococcus aureus* 74,8 µg/mL e 309,4 µg/mL e para *Pseudomonas aeruginosa* e 312,5 µg/mL e 629,7 µg/mL, enquanto que os menores valores de CIM obtidos de *Vitex cymosa* Bert. foram 620 µg/mL (*Staphylococcus aureus*) e de 150 µg/mL (*Pseudomonas aeruginosa*) (SOARES, 2014)

Pesquisando o extrato etanólico da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) Pinto et al. (2014) obtiveram CIM e CMM de 0,39mg/ml para *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, CIM de 6,25 mg/ml e ausência de CMM para *Candida albicans*; para os extratos de tarumã foram encontrados CIM de 7,5 mg/mL para *Escherichia coli*, 0,15 mg/mL para *Pseudomonas aeruginosa* e ausência de CIM e CMM para *Candida albicans*.

A atividade antifúngica da aroeira do sertão (1:8), da malva (1:2) e da goiabeira (1:32) sobre o fungo *Candida albicans* (ALVES et al., 2009), foi semelhante à encontrada com a das semente de *Genipa americana* (1:32) e de *Dipteryx alata* (1:4), porém não detectada com o *Vitex cymosa*. Resultados semelhantes também foram observados na pesquisa sobre a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico de *Anadenanthera macrocarpa* (angico) sobre o *Staphylococcus aureus* (CIM de 1:32) (PALMEIRA et al., 2010) quando comparados aos da polpa e da semente de *Vitex cymosa*, mas inferiores à detectada no extrato de *Genipa americana* (1:64)

Ota et al. (2010) pesquisando a atividade antimicrobiana com extrato hidroalcoólico do alho, verificaram um halo de inibição de 40,08 mm frente a *Candida albicans*, valor este muito superior aos encontrados nos extratos das sementes de baru e do tarumã a 30% (1,67 mm). Esta grande diferença de resultados pode estar relacionada à técnica de difusão aplicada pelos pesquisadores, onde utilizou-se perfuração em ágar, enquanto que nesta pesquisa, foi por impregnação dos extratos em disco.

Os extratos aquosos da casca e da amêndoa da manga (*Mangifera indica* L.) também mostraram halos de inibição superiores aos detectados nesta pesquisa para as bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (acima de 14 mm) (ARBOS, STEVANI & CASTANHA, 2013). No entanto, todos os frutos estudados apresentaram halos de inibição assim como também CIM e CMM para no mínimo um dos microrganismos testados, enquanto que no extrato hidroalcoólico de *Plectranthus ornatos* Codd (boldo chinês), nenhuma atividade foi detectada frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* (SANTOS et al., 2014).

Com base nas análises comparativas com as pesquisas relatadas, observa-se uma grande variedade de resultados, provavelmente em função de composição dos compostos bioativos, bem como variação nas metodologias aplicadas, mas verifica-se também que os frutos do cerrado estudados apresentam potencial para atividade antimicrobiana.

7 CONCLUSÕES

Todos os frutos apresentaram grande potencial para atividade antimicrobiana frente aos quatro microrganismos testados.

O destaque foi o fruto *Genipa americana* (jenipapo) que apresentou os maiores halos de inibição e valores significativos de concentração inibitória mínima e microbicida mínima frente a todos os microrganismos testados. Além disso, alguns de seus extratos não tiveram diferenças significativas com alguns antimicrobianos testados.

O fruto *Dipteryx alata* Vog. (baru) apresentou atividade antimicrobiana mais significativa frente ao microrganismo *Staphylococcus aureus*.

O fruto *Vitex cymosa* Bert. (tarumã) apresentou atividade antimicrobiana considerável frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, principalmente no teste de microdiluição.

Novos estudos devem ser elaborados com intuito de isolar e identificar os compostos bioativos com atividade antimicrobiana além de ensaios para verificar o potencial farmacológico dos mesmos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

Abrão R. As ervas e a saúde: a farmácia no cerrado. Campo Grande: Cidade gráfica e editora Ltda. 2010.

Agostini-Costa TS, Silva DB, Vieira RF, Sano SM, Ferreira FR. Espécies de maior relevância para região Centro-Oeste. In:Vieira RF, Costa TSA, Silva DB, Ferreira FR, Sano SM. Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2006;p.12-24.

Alves PM, Queiroz LMG, Pereira JV, Pereira MSV. Atividade antibacteriana, antiaderente e antifúngica *in vitro* de plantas medicinais brasileiras sobre microrganismos do biofilme dental e cepas do gênero *Cândida*. Rev Soc Bras Med Trop. 2009;42(2):222-224.

Alves IA, Camargo FP, Goulart LS. Identificação por PCR e sensibilidade a antifúngicos de isolados clínicos vaginais de *Candida sp*. Rev Soc Bras Med Trop. 2010;43(5):575-579.

Arbos KA, Stevano PC, Castanha RF. Atividade antimicrobiana, antioxidante e teor de compostos fenólicos em casca e amêndoa de frutos de manga. Rev Ceres. 2013;60(2):161-165.

Ayres MCC, Brandão MS, Vieira-Junior GM, Menor JCAS, Silva HB, Soares MJS, Chaves MH. Atividade antibacteriana de plantas úteis e constituintes químicos da raiz de *Copernicia prunifera*. Rev Bras Farmacogn. 2008;18(1):90-97.

Bail L, Ito AS, Esmerino LA. Infecção do trato urinário: comparação entre o perfil de susceptibilidade e a terapia empírica com antimicrobianos. Rev Bras Anal Clin. 2006;38(1):51-56.

¹Conforme International Committee of Medical Journal Editors (Vancouver Style) - Grupo de Vancouver

Batista HL. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais de plantas do Estado do Tocantins. [Dissertação]. Fortaleza: Departamento de fisiologia e farmacologia da Universidade Federal do Ceará; 2008.

Barbosa DA. Avaliação fitoquímica e farmacológica de *Genipa americana* L. (Rubiaceae). [Dissertação]. Rio de Janeiro: Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2008.

Barros E, Machado A. Cefalosporinas. In: Barros E, Machado A, Sprinz E. Antimicrobianos: consulta rápida. 5 ed. Porto Alegre: Artmed; 2013a. p.235-248.

Barros E, Machado A. Quinolonas. In: Barros E, Machado A, Sprinz E. Antimicrobianos: consulta rápida. 5 ed. Porto Alegre: Artmed; 2013b. p.274-285.

Barth AL, Martins AF, Barros E, Machado A. Classificação dos microrganismos. In: Barros E, Machado A, Sprinz E. Antimicrobianos: consulta rápida. 5 ed. Porto Alegre: Artmed; 2013a. p.75-83.

Barth AL, Lutz L, Barros E, Machado A. Resistência bacteriana. In: Barros E, Machado A, Sprinz E. Antimicrobianos: consulta rápida. 5 ed. Porto Alegre: Artmed; 2013b. p.84-92.

Behar P. Anaerobicidas: metronidazol, clindamicina e lincomicina. In: Fuchs FD, Wannmacher L, Ferreira MBC. Farmacologia Clínica: fundamentos da terapêutica racional. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. p.400-406.

Bennett JE. Agentes antimicrobianos: agentes antifúngicos. In: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL. Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica. 11 ed. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda.; 2010. p.1103-1118.

Berquó LS, Barros AJD, Lima RC, Bertoldi AD. Utilização de antimicrobianos em uma população urbana. Rev Saúde Pública. 2004; 38(2): 239-246.

Bittencourt-Junior FF, Paixão-dos Santos FM, Vasconcelos NG, Pimenta-Rodrigues MV. Estudo da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da *Ilex paraguaiensis*. Interbio. 2012; 6(2): 48-54.

Borges RM, Soares LR, Brito CS, Brito DVD, Abdallah VOS, Gontijo-Filho PP. Fatores de risco associados à colonização por *Candida spp.* em neonatos internados em unidade de terapia intensiva neonatal brasileira. Rev Soc Bras Med Trop. 2009; 42(4):431-435.

Botezelli L, David AC, Malavasi MM. Características dos frutos e sementes de quatro procedências de *Dypterix alata* Vogel (Baru). Rev Cerne. 2000; 6(1):9-18.

Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução-RDC 20/2011. Dispõe sobre o controle de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos, de uso sob prescrição, isoladas ou em associação. Diário Oficial da União. 9 mai 2011 [acesso em 20 fev 2015]. Disponível em:
<<http://www.anvisa.gov.br/sngpc/Documentos2012/RDC%2020%202011.pdf?jornal=...%28Acessadol>> .

Caldeira SD, Hiane PA, Ramos MIL, Ramos-Filho MM. Caracterização físico-química do araçá (*Psidium guineense* SW.) e tarumã (*Vitex cymosa* Bert.) do Estado de Mato Grosso do Sul. Rev Ceppa. 2004; 22(1):145-154.

Cavalcanti YW, Pérez ALAL, Xavier GDR, Almeida LFD, Padilha WWN. Atividade antifúngica de extratos vegetais brasileiros sobre cepas de cândida. Rev Bras Ciên Saúde. 2012; 16(1):43-48.

Central do Cerrado. Baru: *Dipteryx alata* Vog.[foto]. 2008. [Acesso em 18 jan 2015]. Disponível em: <http://www.centraldocerrado.org.br/baru.html>

Cezari EJ. Plantas medicinais: atividade antitumoral do extrato bruto de sete plantas do cerrado e o uso por povos tradicionais [Dissertação]. Palmas: Pós- Graduação em Ciências do Fundação Universidade Deferal do Tocantins; 2010.

Chambers HF. Princípios gerais de terapia antimicrobiana. In: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL. Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica. 11 ed. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda.; 2010a. p.983-997.

Chambers HF. Inibidores da síntese de proteínas e agentes antibacterianos diversos. In: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL. Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica. 11 ed. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda.; 2010b. p.1055-1081.

Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Métodos de referência para testes de diluição em caldo para determinação da sensibilidade de leveduras à terapia antifúngica M27-A2. 2 ed. Wayne: CLSI; 2002.

Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Metodologia dos Testes de Sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactérias de crescimento aeróbico M7-A6. 6 ed. Wayne: CLSI; 2003.

Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão M2-A8. 8 ed. Wayne: CLSI; 2005.

Colombo AL, Guimarães T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. Rev Soc Bras Med Trop. 2003; 36 (5):599-607.

Cornell University. Low G+C Gram Positive Bacteria. [figura]. 2015. [Acesso em 30 jan 2015]. Disponível em: <https://micro.cornell.edu/research/epulopiscium/low-g-and-c-gram-positive-bacteria>

Damasceno-Junior GA, Souza PR. Sabores do cerrado & Pantanal: receitas & boas práticas de aproveitamento. Campo Grande, MS: Editora UFMS; 2010.

Degáspari CH, Waszczynskyj N, Prado, MRM. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebenthifolius* Raddi. Cienc Agrotec. 2005; 29(3):617-622.

Dias VLN, Nascimento AR, Souza AG, Serra JL, Oliveira FCC, Marques HVCF. Atividade antibacteriana do óleo essencial extraído das folhas de *Cinnamomum*

zeylanicum Breyn (canela) frente a cepas de bactérias patogênicas. Rev Hig Aliment. 2012; 26(214/215):156-162.

Dutra RC, Braga FG, Coimbra ES, Silva AD, Barbosa NR. Atividade antimicrobiana e leishmanicida das sementes de *Pterodon emarginatus* Vogel. Rev Bras Farmacogn. 2009; 19 (2A): 429-435.

Elias-Junior WP, Gomes TAT. *Escherichia coli* Enteroagregativa (EAEC). In: Trabulsi LR, Alterthum F. Microbiologia. 4.ed. São Paulo: Atheneu; 2005. p.289-292.

Farmacopéia Brasileira. Métodos de preparação e análise de extratos vegetais. 5 ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2010.

Fazio MLS, Virgolin LB, Borsato-Moysés J, Geromel MR. Avaliação da atividade antibacteriana de extratos aquosos de pitaya e mirtilo. Rev Hig Aliment. 2014; 28(232/233):151-154.

Fernandes TT, Santos ATF, Pimenta FC. Atividade antimicrobiana das plantas *Plathymenia reticulata*, *Hymenaea courbaril* e *Guazuma ulmifolia*. Rev Patol Trop. 2005; 34 (2):113-122.

Ferraz MC, Yoshida EH, Tavares RVS, Cogo JC, Cintra ACO, Dal Belo CA, Franco LM, Santos MG, Resende FA, Varanda EA, Hyslop S, Puebla P, San Feliciano OA, Oshima-Franco Y. An isoflavone from *Dipteryx alata* Vogel is active against *in vitro* neuromuscular paralysis of *Bothrops jararacussu* snake venom and bothropstoxin I and prevents venom-induced myonecrosis. Rev Molecules. 2014; 19(Supl): 5790-5805.

Ferreira PRB, Mendes CSO, Rodrigues CG, Rocha JCM, Royo VA, Valerio HM, Oliveira DA. Antibacterial activity tannin-rich fraction from leaves of *Anacardium humile*. Ciênc. Rural. 2012; 42(10): 1861-1864.

Fosch S, Younes C, Trossero M, Grosso O, Nepote A. Portación nasal de *Staphylococcus aureus* en individuos de la comunidad: factores epidemiológicos. Acta Bioquim Clin L. 2012; 46 (2):59-67.

Fonseca EN, Figer A, Furtado DT, Lopes D, Alviano DS, Alviano CS, Leitão SG. Análise química e atividade antimicrobiana do óleo essencial dos frutos de *Vitex cymosa* Bert. Rev Bras Plantas Med. 2006; 8 (4):87-91.

Franco BDGM, Landgraf M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu; 2005. 182p.

Franzolin MR, Campos LC, Trabulsi LR. *Escherichia coli* que causa infecções extra-intestinais (ExPEC- extraintestinalpathogenic *E. coli*). In: Trabulsi LR, Alterthum F. Microbiologia. 4 ed. São Paulo: Atheneu; 2005. p.303-310.

Freitas AVL, Coelho MFB. Os “remédios do mato” por especialistas locais da comunidade de São João da Várzea, Mossoró, RN, Brasil. Rev Interações. 2014; 15(2):227-235.

Fuchs FD. Principios gerais do uso de antimicrobianos. In: Fuchs FD, Wannmacher L, Ferreira MBC. Farmacologia Clínica: fundamentos da terapêutica racional. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006a. p.342-359.

Fuchs FD. Antibióticos betalactâmicos. In: Fuchs FD, Wannmacher L, Ferreira MBC. Farmacologia Clínica: fundamentos da terapêutica racional. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006b. p.360-368.

Fuchs FD. Macrolídeos. In: Fuchs FD, Wannmacher L, Ferreira MBC. Farmacologia Clínica: fundamentos da terapêutica racional. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006c. p.369-372.

Fuchs FD. Tetraciclinas e Cloranfenicol. In: Fuchs FD, Wannmacher L, Ferreira MBC. Farmacologia Clínica: fundamentos da terapêutica racional. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006d. p. 373-376.

Gompertz OF, Gambale W, Paula CR, Corrêa B. Micoses oportunistas e outras micoses. In: Trabulsi LR, Alterthum F. Microbiologia. 4 ed. São Paulo: Atheneu; 2005. p.495-499.

Gonçalves AL, Alves-Filho A, Menezes H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. Arq inst Biol. 2005; 72(3): 353-358.

Gottlieb OR, Mors WB. Potential utilization of Brazilian wood extractives. Journal of Agricultural and Food Chemistry . 1980; 28 (2): 196-215.

Guarim-Neto G. Plantas do Brasil: Angiospermas do estado do Mato Grosso-Pantanal. Acta Bot Bras. 1991; 5(1):5-47.

Holanda AAR, Fernandes ACS, Bezerra CM, Ferreira MAF, Holanda MRR, Holanda JCP, Milan EP. Candidíase vulvovaginal: sintomatologia, fatores de risco e colonização anal concomitante. Rev Bras ginecol e obstet. 2007; 29 (1) 3-9.

Klink CA, Machado RB. A conservação do cerrado brasileiro. Rev Megadiversidade. 2005; 1(1):147-155.

Lima BRG, Coelho AFS. Investigação in vitro da atividade antimicrobiana do extrato do chá Ayahuasca. Hig Aliment. 2013; 27(220/221):121-126.

Lincopan N, Trabulsi LR. *Pseudomonas aeruginosa*. In: Trabulsi, LR. Alterthum F. Microbiologia. 4 ed. São Paulo: Atheneu; 2005. p.359-368

Lopes HV. O tratamento das infecções graves por *Pseudomonas aeruginosa*. Rev Panam Infectol. 2009; 11(3):74-76.

Lopes DCDXP, Freitas, ZMF, Santos, EP, Tomassini TCB. Atividades antimicrobiana e fototóxica de frutos e raízes de *Physalis angulata* L. Rev. Bras. Farmacog. 2006; 16(2):206-210.

Machado A, Barros E. Principais grupos farmacológicos: conceitos e propriedades. In: Barros E, Machado A, Sprinz E. Antimicrobianos: consulta rápida. 5 ed. Porto Alegre: Artmed; 2013a. p.32-64.

Machado A, Barros E. Aminoglicosídeos In: Barros E, Machado A, Sprinz E. Antimicrobianos: consulta rápida. 5 ed. Porto Alegre: Artmed; 2013b. p.259-266.

Machado A, Barros E. Sulfonamidas In: Barros E, Machado A, Sprinz E. Antimicrobianos: consulta rápida. 5 ed. Porto Alegre: Artmed; 2013c. p.294-298.

Machado A, Barros E, SILVA RG. Tetraciclínas. In: Barros E, Machado A, Sprinz E. Antimicrobianos: consulta rápida. 5 ed. Porto Alegre: Artmed; 2013. p.286-293.

Machado ARL. Aminoglicosídeos. In: Fuchs FD, Wannmacher L, Ferreira MBC. Farmacologia Clínica: fundamentos da terapêutica racional. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006a. p. 377-381.

Machado ARL. Antifúngicos. In: Fuchs FD, Wannmacher L, Ferreira MBC. Farmacologia Clínica: fundamentos da terapêutica racional. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006b. p. 431-449.

Maciel L. Conheça as frutas exóticas.[foto]. 2013.[Acesso em 10 dez 2014]. Disponível em: <http://revistavivasaude.uol.com.br/guia/conheca-as-frutas-exoticas/93/>

Maiochi GM, Prochnow M. Tarumã, a azeitona do mato. [foto] 2009. [Acesso em 12 dez 2014]. Disponível em: <http://www.apremavi.org.br/noticias/apremavi/521/taruma-a-azeitona-do-mato2009>

Martinez MB. *Escherichia coli* enteroinvasora (EIEC). In: Trabulsi LR, Alterthum F. Microbiologia. 4 ed. São Paulo: Atheneu; 2005. p.299-301.

Martins AF, Barth AL, Barros E, Machado A. Estrutura e fisiologia bacteriana. In: Barros E, Machado A, Sprinz E. Antimicrobianos: consulta rápida. 5 ed. Porto Alegre: Artmed; 2013. p.65-74.

Meena AK, Niranjana US, Rao MM, Padhi MM, Babu R. A review of the important chemical constituents and medicinal uses of *Vitex* genus. Asian J Trad Med. 2011; 6(2): 54-60.

Mendonça DE, Onofre SB. Atividade antimicrobiana do óleo-resina produzido pela copaíba- *Copaifera multijuga hayne* (Leguminosae). Rev Bras Farmacogn. 2009; 19(2B): 577-581.

Morais SM, Dantas JDP, Silva ARA, Magalhães EF. Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará. Rev Bras Farmacogn. 2005; 15(2):169-177.

Moura JP, Pimenta FC, Hayashida M, Cruz EDA, Canini SRMS, Gil E. A colonização dos profissionais de enfermagem por *Staphylococcus aureus*. Rev Latinoam Enferm. 2011; 19(2):[7 telas]

Moura MRSAL, Mello MJG, Calabria WB, Germano EM, Maggi RRS, Correia JB. Frequência de *Escherichia coli* e sua sensibilidade aos antimicrobianos em menores de cinco anos hospitalizados por diarreia aguda. Rev Bras Saude Matern infant. 2012; 12(2):173-182.

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiologia Médica. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2009. 948p.

Naturdata .*Candida albicans*. [figura]. 2012. [Acesso em 31 jan 2015]. Disponível em: <http://naturdata.com/Candida-albicans-12421.htm>

Nazato VS, Rubem-Mauro L, Vieira NAG, Rocha-Junior DS, Silva MG, Lopes PS, Dal-Belo CA, Cogo JC, Santos MG, Cruz-Hofling MA, Oshima-Franco Y. *In vitro* antiophidian properties of *Dipteryx alata* Vogel bark extracts. Rev Molecules. 2010; 15(Supl):5956-5970.

Novaes TC, Yano M. Estudo da composição da polpa madura de *Dypterix alata*. In: XIV Encontro de Iniciação Científica da Universidade Católica Dom Bosco. Caderno de Resumos; 2010 nov 22-23; Campo Grande, Brasil. Editora UCDB; 2010. p.51.

Oliveira RDR, Maffei CMI, Martinez R. Infecção urinária hospitalar por leveduras do gênero *Candida*. Rev Assoc Med Bras. 2001; 47(3):231-235.

Oliveira FBM, Lima LM, Moura MEB, Nunes BMVT, Oliveira BM. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: uma reflexão no tratamento das infecções hospitalares. Rev Novafapi. 2011; 4(4):72-77.

Ordoñez JG, Trabulsi LR. *Escherichia coli* enteroemorrágica (EHEC). In: Trabulsi LR. Alterthum F. Microbiologia. 4 ed. São Paulo: Atheneu; 2005. p.285-288.

Ota CCC, Silva DVG, Jacon KC, Baura V, Nunes S. Avaliação da atividade antimicrobiana e anti-inflamatória do extrato hidroalcoólico de *Allium sativum* (alho). Tuiuti: Ciênc Cult. 2010; 43(Supl):37-49.

Palmeira JD, Ferreira SB, Souza JH, Almeida JM, Figueiredo MC, Pequeno AS, Arruda TA, Antunes RMP, Catão RMR. Evaluation of the antimicrobial activity *in vitro* and determination of minimum the inhibitory concentration (MIC) of hidroalcoholic extracts of angico in strains *Staphylococcus aureus*. Rev Bras Anal Clin. 2010; 42(1):33-37.

Pereira ZV, Gomes CF, Lobtchenko G, Gomes MES, Simões PDA, Saruwatari RPS, Rigo VF, Cordeiro W.P. Levantamento das plantas medicinais do cerrado *Sensu Stricto* da fazenda Paraíso-Dourados, MS. Rev Bras Biocien. 2007; 5(1):249-251.

Perez LRR, Costa MCN, Freitas ALP, Barth AL. Evaluation of biofilm production by *Pseudomonas aeruginosa* isolates recovered from cystic fibrosis and non-cystic fibrosis patients. Braz J Microbiol. 2011; 42(Supl):476-479.

Petri WA. Penicilinas, Cefalosporinas e outros antibióticos beta-lactâmicos. In: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL. Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica. 11 ed. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda.; 2010a. p.1013-1038

Petri WA. Sulfonamidas, sulfametoxazol- trimetropima, quinolonas e agentes para infecções do trato urinário. In: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL. Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica. 11 ed. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda.; 2010b. p.999-1012.

Pinheiro KM, Moraes FC, Mocelin AFB, Figueiredo PMS. Comparação da atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de três formas comercializadas de alho- *Allium sativum*, contra bactérias de interesse clínico. Rev Hig Aliment. 2014; 28(228/229): 65-69.

Pinho L, Souza PNS, Sobrinho EM, Almeida AC, Martins ER. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. Ciênc Rural. 2012; 42(2):326-331.

Pinto EPP, Amorozo MCM, Furlan A. Conhecimento popular sobre plantas medicinais em comunidades rurais de Mata Atlântica- Itacaré, BA, Brasil. Acta Bot Bras. 2006; 20(4):751-762.

Pinto FGS, De Bona EAM, Fruet TK, Jorge TCM, Moura AC. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais alcoólicos e etanólicos. Arq Inst Biol. 2014; 81(3):218-225.

Puebla P, Oshima-Franco Y, Franco LM, Santos MG, Silva RV, Rubem-Mauro L, San Feliciano A. Chemical Constituents of the Bark of *Dipteryx alata* Vogel, an Active Species against *Bothrops jararacussu* Venom. Molecules. 2010; 15(Supl): 8193-8204.

Rezaee MA, Sheikhalizadeh V, Hasani A. Detection of integrons among multi-drug resistant (MDR) *Escherichia coli* strains isolated from clinical specimens in Northern West of Iran. Braz J Microbiol. 2011; 42(Supl):1308-1313.

Rocha WS, Lopes RM, Silva DB, Vieira RF, Silva JP, Agostini-Costa TS. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. Rev Bras Frutic. 2011; 33(4):1215-1221.

Rodrigues AP, Andrade LHC. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais utilizadas pela comunidade de Inhamã, Pernambuco, Nordeste do Brasil. Rev Bras Plantas Med. 2014; 16(3):721-730.

Sadiq IS, Shuaibu M, Bello AB, Tureta SG, Isah A, Izuagie T, Nasiru S, Kamaru MB. Phytochemistry and antimicrobial activities of *Cassia Occidentalis* used for herbal remedies. J Chem Eng. 2012; 1(1):38-41.

Sano SM, Brito MA, Ribeiro JF. Baru. In: Vieira RF, Costa TSA, Silva DB, Ferreira FR, Sano SM. Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; 2006. p.76-101.

Santos TC, Sshripsema J, Monache FD, Leitão SG. Iridoids from *Vitex cymosa*. Rev Soc Bras Quim. 2001; 12(6):763-766.

Santos-Junior ID, Souza IAM, Borges RG, Souza LBS, Santana WJ, Coutinho HDM. Características gerais da ação, do tratamento e da resistência fúngica ao fluconazol. Sci Med. 2005; 15(3):189-197.

Santos LJ, Marmontel CVF, Martins TM, Melo AGC. Fitossociologia do cerrado *Sensu stricto* localizado no município de Carbonita-MG. Rev Cient Eletr Eng Florestal. 2010; 15(1):77-90.

Santos LA, Rufino LRA, Oliveira NMS, Fiorini JE. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Morus nigra*. Hig Aliment. 2013; 27(224/225):125-128

Santos LA, Menezes JS, Rufino LRA, Oliveira NMS, Fiorini JE. Determinação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da planta *Plectranthus ornatus* Codd. Rev Universidade Vale Rio Verde. 2014;12(1):119-129.

Seidl M. Industrial Uses of Fungi.[figura]. 2006. [Acesso em 30 jan 2015]. Disponível em: <https://www.emlab.com/s/sampling/env-report-09-2006.html>

Silva DB, Salomão AN, Carvalho PCL, Wetzel MMVS. Jenipapo. In:Vieira RF, Costa TSA, Silva DB, Ferreira FR, Sano SM. Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; 2006b. p.304-322.

Silva JG, Souza IA, Hignino JS, Siqueira-Junior JP, Pereira JV, Pereira MSV. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multirresistentes de *Staphylococcus aureus*. Rev Bras Farmacogn. 2007a; 17(4):572-577.

Silva VC, Bolzani VS, Young MCM, Lopes MN. A new antifungal phenolic glycoside derivative, iridoids and lignans from *Alibertia sessilis* (Vell.) K. Schum. (Rubiaceae) J. Braz. Chem. Soc. 2007b; 18(7): 1405-1409.

Silva-Junior IF, Cechinel-Filho V, Zacchino SA, Lima JCS, Martins DTO. Antimicrobial screening of some medicinal plants from Mato Grosso Cerrado. Rev Bras Farmacogn. 2009; 19 (1B):242-248.

Soares NR. Avaliação da Atividade Antimicrobiana e caracterização físico- química de sabonete líquido à base de óleo de baru, buriti e pequi. [Dissertação]. Goiás: Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos; 2014.

Sprinz E, Jeffman MW, Deutschendorf C. Antifúngicos. In: Barros E, Machado A, Sprinz E. Antimicrobianos: consulta rápida. 5 ed. Porto Alegre: Artmed; 2013. p.334-360.

Tamayo LMA, González DMA, Garcés YJ. Propriedades farmacológicas del Algarrobo (*Hymenaea courbaril* Linneaus) de interés para la industria de alimentos. *Revista Lasallista Investigación*. 2008; 5(2):100-111.

Takemoto E, Okada IA, Garbelotti ML, Tavares M, Aued-Pimentel S. Composição química da semente e do óleo de baru (*Dypterix alata* Vog.) nativo do município de Pirenópolis, Estado de Goiás. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2001; 60(2):113-117.

Trabulsi LR, Ordoñez JG. *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC). In: Trabulsi LR. Alterthum F. *Microbiologia*. 4.ed. São Paulo: Atheneu; 2005. p.277-284

Trindade MP, Fonseca L, Juiz PJJ. Atividade antimicrobiana da tintura da casca de romã (*Punica granatum*) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pyogenes*: estudo *in vitro*. *Rev Bras Pesq Saúde*. 2009; 11(4):49-54.

Tundis R, Loizzo MR, Menichini F, Statti GA, Menichini F. Biological and pharmacological activities of iridoids: recente developments. *Mini. Ver. Med. Chem*. 2008; 8(4):399-420.

Vasconcelos-Junior AA, Menezes EA, Cunha FA, Cunha MCSO, Braz BHL, Capelo LG, Silva CLF. Comparação entre microdiluição e disco difusão para o teste de susceptibilidade aos antifúngicos contra *Candida* spp. *Semina Ciên Biol Saúde*. 2012; 33(1):135-142.

Vera R, Junior MSS, Naves RV, Souza ERB, Fernandes EP, Caliari M, Leandro WM. Características químicas de amêndoas de barueiros (*Dipteryx alata* Vog.) de ocorrência natural no cerrado do Estado de Goiás, Brasil. *Rev Bras de Frutic*. 2009; 31(1):112-118.

Vidaver AK, Lambrecht PA. Bacteria as plant pathogens. [figura]. 2004. [Acesso em 01 fev 2015]. Disponível em: <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/pathogengroups/pages/bacteria>

Wannmacher L. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: uma guerra perdida? Brasília: Organização Pan-americana de saúde/Organização Mundial da Saúde; 2004.

Wannmacher L. Sulfas, trimetropina-sulfametoxazol e anti-sépticos urinários. In: Fuchs FD, Wannmacher L, Ferreira MBC. Farmacologia Clínica: fundamentos da terapêutica racional. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. p.392-399.

Zimmerman RA. Uso indiscriminado de antimicrobianos e resistência microbiana. Brasília: Ministério da Saúde; 2010.