

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