

ARTIGO ORIGINAL

Avaliação da atividade antimicrobiana do mesocarpo interno do *Caryocar brasiliense* contra cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* isoladas de infecção hospitalar.

*Evaluation of the antimicrobial activity of the internal mesocarp of *Caryocar brasiliense* against strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from hospital infection.*

Bianca Cristina Baldívia¹, Mariléia Chaves Andrade²

¹ Acadêmica do 6º ano da Faculdade de Medicina de Itajubá

² Professora da Faculdade de Medicina de Itajubá

Contato:

Bianca Cristina Baldívia
biancabaldivia@gmail.com

Avaliação da atividade antimicrobiana do mesocarpo interno do *Caryocar brasiliense* contra cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* isoladas de infecção hospitalar.

Resumo

Introdução: Considerando o alto percentual de isolamento de *S. aureus* e de *E. coli* em infecções hospitalares e que ensaios *in vitro* com um extrato hidroetanólico de folhas de *Caryocar brasiliense* mostraram atividade antibacteriana contra *Enterococcus faecalis* e *Pseudomonas aeruginosa*, optou-se por utilizar o *Caryocar brasiliense* na produção de extrato para avaliar possível atividade antimicrobiana contra cepas de *E.coli* e *S. aureus*. **Objetivos:** Verificar atividade antimicrobiana do extrato de *Caryocar brasiliense*, em diferentes concentrações, perante amostras de *S. aureus* e *E. coli*. **Métodos:** Utilizou-se 20 cepas de *E. coli* e 20 cepas de *S. aureus*, que foram reavivadas e incubadas em estufa microbiológica a 37°C. As amostras foram transferidas para solução salina estéril (NaCl 0,85%). Para obtenção do extrato, retirou-se 28g do mesocarpo interno que foi seco em estufa, triturado e adicionado a 140mL de álcool 70% e submetido ao banho maria. O resultante do banho maria foi filtrado e incubado em estufa a 40°C. Para a análise da inibição do crescimento bacteriano foi realizado o método de microdiluição em placas nas concentrações de 200, 100, 50, 25 12.5, 6.25, 3.12 e 1.56 mg/mL do extrato. **Resultados:** 15%, 10% e 5% das cepas de *E. coli* foram inibidas nas concentrações do extrato de 200,100 e 50 mg/mL, respectivamente. 35%, 25%, 45% e 5% das cepas de *S. aureus* foram inibidas nas concentrações de 200, 100, 50 e 25 mg/mL, respectivamente. **Conclusão:** apesar de pequena, houve atividade antimicrobiana do extrato do *Caryocar brasiliense* diante de *S. aureus* e de *E. coli*.

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana; *Caryocar brasiliense*; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*.

Evaluation of the antimicrobial activity of the internal mesocarp of *Caryocar brasiliense* against strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from hospital infection.

Abstract

Introduction Considering the high percentage of isolation of *S. aureus* and *E. coli* in hospital infections and that in vitro tests with a hydroethanolic extract of *Caryocar brasiliense* leaves showed antibacterial activity against *Enterococcus faecalis* and *Pseudomonas aeruginosa*, it was decided to use *Caryocar brasiliense* in the production of extract to evaluate possible antimicrobial activity against strains of *E. coli* and *S. aureus*.

Aims: To verify the antimicrobial activity of the extract of *Caryocar brasiliense*, in different concentrations, against the samples of *S. aureus* and *E. coli*. **Methods:** Twenty strains of *E. coli* and 20 strains of *S. aureus* were used, which were revived and incubated in a microbiological oven at 37 ° C. Samples were transferred to sterile saline (0.85% NaCl). To obtain the extract, 28 g of the internal mesocarp was removed and dried in an oven, crushed and added to 140 mL of 70% alcohol and submitted to the water bath. The resulting water bath was filtered and incubated in an oven at 40 ° C. For the analysis of inhibition of bacterial growth the plaque microdilution method was performed at the concentrations of 200, 100, 50, 25 12.5, 6.25, 3.12 and 1.56 mg / mL of the extract. **Results:** 15%, 10% and 5% of *E. coli* strains were inhibited at extract concentrations of 200, 100 and 50 mg / mL, respectively. 35%, 25%, 45% and 5% of *S. aureus* strains were inhibited at concentrations of 200, 100, 50 and 25 mg / mL, respectively. **Conclusion:** Although small, there was antimicrobial activity of *Caryocar brasiliense* extract *S. aureus* and *E. coli*.

Introdução

Infecção Hospitalar (IH) ou nosocomial é a infecção adquirida após a admissão, que se manifesta durante a hospitalização ou após a alta, quando puder ser relacionada com a internação ou com procedimentos hospitalares^{1,2}. IH advém em parte de alterações nas condições imunológicas e orgânicas dos pacientes, deixando-os mais propensos a infecções³.

Essas infecções representam grave problema de saúde no Brasil e no mundo, estendendo o tempo de hospitalização, morbidade e mortalidade, além de gerar mudanças nos padrões de resistência microbiana com conseqüente aumento nos custos assistenciais⁴. A maioria das infecções hospitalares é provocada por bactérias de baixa virulência que constituem a flora humana normal e dentre os principais patógenos estão as bactérias gram positivos, como *Staphylococcus aureus*, os *Pneumococos* e *Enterococcus*, e os bacilos gram negativos, representados pela *Klebsiella*, *E. coli*, *Enterobacter* e *Serratia*⁵.

Atualmente, muitos patógenos clinicamente importantes são resistentes a todos ou quase todos os antibióticos. Este fenômeno da resistência bacteriana mundial é preocupante, especialmente no ambiente hospitalar⁶.

Staphylococcus aureus é uma bactéria Gram positiva e um dos principais agentes bacterianos envolvidos em infecções nosocomiais e comunitárias, como infecções de pele, infecções pós-cirúrgicas, pneumonias, abscessos e endocardites que podem apresentar altos índices de morbidade e mortalidade⁷. Destaca-se por sua elevada patogenicidade que a permite produzir doenças, tanto em indivíduos imunocomprometidos quanto em hígidos, além sua fácil disseminação intra-hospitalar devido a sua resistência aos antimicrobianos⁸.

O problema da resistência do *S. aureus* à meticilina foi descrito pela primeira vez nos anos 60, tornando-se prevalente desde 1980. São endêmicos, em muitos hospitais, e mesmo epidêmicos em alguns, geralmente sendo resistentes, em 30%, de todas as infecções causadas por *Staphylococcus aureus*⁹.

Escherichia coli é bactéria Gram negativa, presente na microbiota normal do ser humano, exercendo um efeito benéfico sobre o organismo: suprime a multiplicação de bactérias prejudiciais e sintetiza vitaminas. No entanto, há cepas de *E.coli* capazes de provocar doenças graves como, por exemplo, o grupo das enteropatogênicas¹⁰. Diversos estudos realizados no Brasil demonstram alta taxa de resistência de *Escherichia coli* a amoxicilina/ampicilina, sulfametoxazol - trimetoprim e cefalotina^{11,12}.

Diante desse cenário, alguns trabalhos exploraram a possibilidade do uso de produtos vegetais para combater infecções, como, por exemplo, extratos alcoólicos obtidos das folhas das plantas *Schinus terebinthifolius* (aroeira), *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) e *Cordia verbenacea* (erva-baleeira)¹³, bem como extrato

de *Plectranthus amboinicus* (hortelã de folha grossa)¹⁴ e óleo essencial obtido das sementes de *P. emarginatus* (sucupira branca)¹⁵ demonstraram inibição do crescimento de *S. aureus*.

Desse modo, a investigação de produtos vegetais com atividade antimicrobiana tornou-se imprescindível na guerra contra a resistência bacteriana aos antimicrobianos já existentes. O Pequi (*Caryocar brasiliense*) é uma árvore frutícola típica do cerrado brasileiro constituindo fonte de vitamina para finalidades culinárias e fonte do óleo para cosméticos^{16,17}.

Considerando o alto percentual de isolamento de *S. aureus* e de *E. coli* em IH, optou-se neste estudo por utilizar o *Caryocar brasiliense*, de amplo potencial para aplicação nas áreas clínica e cosmética, como substrato para obtenção do extrato utilizado para avaliar possível atividade antimicrobiana contra cepas dessas bactérias.

Materiais e métodos

Escolha dos microrganismos:

As 20 cepas de *S. aureus* e 20 cepas de *E. coli* utilizadas na pesquisa foram provenientes do Banco de microrganismos do Laboratório de Microbiologia de uma faculdade de Medicina do sul de Minas Gerais, obtidas de pacientes hospitalizados no Hospital Escola desta instituição, no período de 2001 a 2007, isoladas de diversas amostras (urina, pele, corrente sanguínea, sítio cirúrgico e outros) dos pacientes nas diferentes unidades hospitalares (Pediatria, Clínica Particular, Clínica Cirúrgica, Clínica Médica e Unidade de Terapia Intensiva).

Reavivamento das bactérias:

Foram retiradas do freezer 30 amostras de cada bactéria que, após descongeladas à temperatura ambiente, foram plaqueadas em meio de cultura Ágar Nutriente, e incubadas em estufa microbiológica à 40°C por 48 horas¹⁸. Após esse procedimento, das 60 amostras candidatas ao estudo, 28 das amostras de *E. coli* e 29 amostras de *S. aureus* obtiveram crescimento significativo. Dentre as amostras cujo crescimento

foi significativo 20 amostras de *S. aureus* e 20 amostras de *E. coli* foram escolhidas aleatoriamente para dar prosseguimento à pesquisa.

Preparação das amostras:

As cepas selecionadas foram coletadas das placas Petri e então transferidas com auxílio da alça de repicagem estéril para microtubos contendo 5ml de solução salina (0,85%). Esses microtubos foram vortezados e os inóculos padronizados empregando o cartão de Wickeman até atingir 3+ (quando ocorre desaparecimento das linhas), que corresponde à escala 0,5 de Mc Farland (aproximadamente 10^8 UFC/ml)¹⁹. Em seguida, cada amostra foi diluída 10 vezes colocando 50µL da bactéria em 450µL de salina estéril, colocadas em tubos *ependof* e mantidas sob refrigeração até análise²⁰.

Obtenção do extrato hidroalcoólico do fruto de Pequi:

O extrato hidroalcoólico padrão (EAPs) foi obtido segundo metodologia adaptada de Krychak-Furtado (2006). A amostra de frutos teve seu mesocarpo interno retirado, totalizando 28g de amostra, e seco em estufa microbiológica a 40°C por 48h. Posteriormente, triturado com auxílio de almofariz. O resultante da trituração foi adicionado a etanol 70%, incubados em banho-maria a 60°C por 60 min. Filtrou-se a suspensão quente em funil com algodão e, para evaporação do solvente, foi levada à estufa a 40°C até atingir peso constante. A solução estoque foi obtida através de 10mL de água destilada adicionados à 3g de extrato, resultando na concentração de 300mg/mL²¹.

Análise da atividade antimicrobiana do extrato de pequi- Microdiluição em placas:

A análise foi realizada segundo metodologia padronizada de microdiluição em placa, com adaptações. As quatro placas utilizadas (duas para análise de *S. aureus* e duas para análise de *E. coli*) contendo 96 poços, sendo 8 fileiras de poços, numeradas de A até H, e 12 colunas de poços, numeradas de 1 a 12²². A princípio colocou-se 50 µl de caldo *Müller Hinton* em todos os poços da placa. Em seguida, foi adicionado 50

µl do extrato de pequi (*Caryocar brasilienses*) em diferentes concentrações (200 mg/ml, 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml, 12,5 mg/ml, 6,25 mg/ml, 3,12 mg/ml e 1,56 mg/ml), escolhidas empiricamente, nas linhas horizontais (A a H da placa): a fileira A recebeu extrato concentração de 200 mg/ml, a B, extrato na concentração de 100 mg/ml e assim por diante. Em seguida, adicionou-se 10µl de 10 cepas bacterianas de *E. coli* e *S. aureus*, previamente preparadas (exposto no item “Preparação das amostras”), nos poços de cada coluna de 1 a 11 em suas respectivas placas. Desse modo, cada coluna continha uma cepa bacteriana diferente da outra, exemplificando: de A1 a H1 a cepa bacteriana foi a mesma, diferindo das fileiras A2 a H2, e assim sucessivamente. A coluna de número 11 de cada placa recebeu o controle positivo contendo 100µL de caldo Müller Hunton e 10µl de uma cepa bacteriana controle, e a coluna 12 recebeu o controle negativo: 50 µl do caldo Müller Hunton mais 50 µl do extrato nas diferentes concentrações (figura 1). Em seguida as placas foram incubadas em estufa 40°C por 24h. Após esse tempo, adicionou-se 20 µl do revelador cloreto de 2,3,5-trifenil tetraezólio (TTC) a 2,5%, em todos os poços, para a avaliação do crescimento bacteriano por aspectos colorimétricos, seguido de incubação em estufa de 35°C por 3h. Concluído o período de 3h, realizou-se a leitura das placas através da coloração obtida com o revelador TTC (figura 2), sendo que a coloração avermelhada ou rosada corresponde a crescimento bacteriano (indicativo de mudança de cor do TTC- crescimento bacteriano), enquanto a coloração marrom, ausência de crescimento bacteriano, provável efeito inibitório da solução teste²².

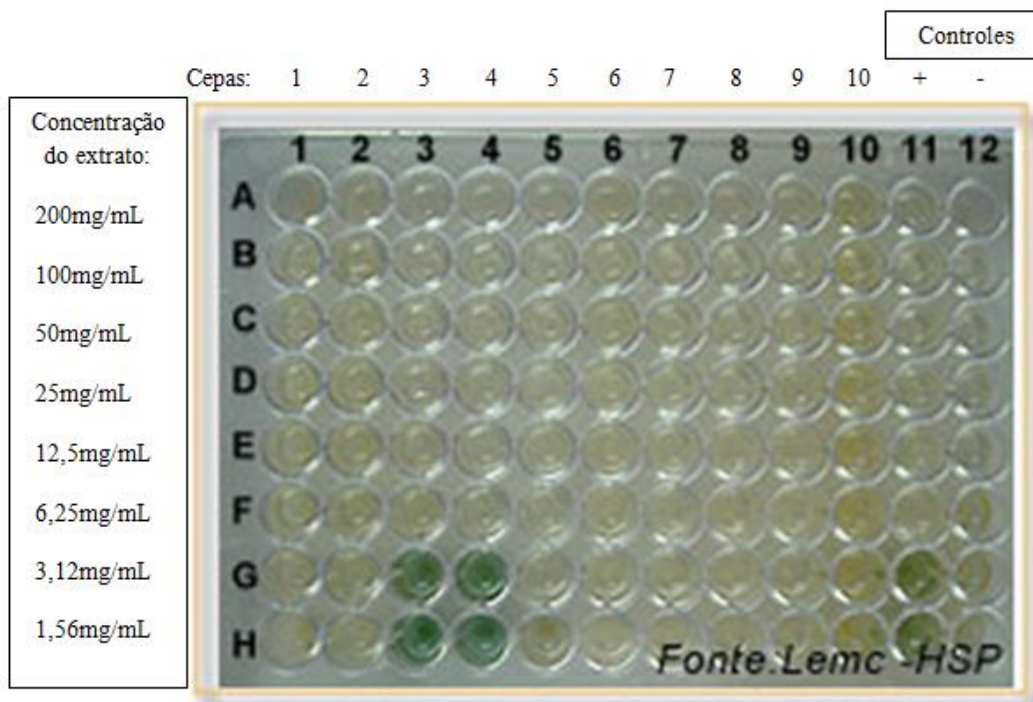


Figura 1. Placa demonstrativa de microdiluição para análise da atividade antimicrobiana do extrato de *C.brasiliense* contra cepas de *E. coli* e de *S. aureus*.

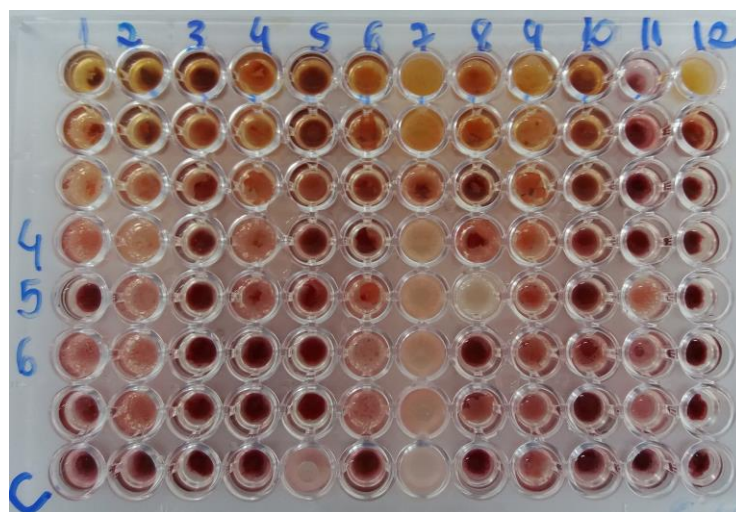


Figura 2. Demonstração do teste de microdiluição em placa com amostras de *E. coli*, evidenciando aspectos colorimétricos da revelação pelo revelador TTC. Os poços que tiveram efeito inibitório apresentaram coloração marrom, e os de coloração avermelhada, não houve efeito inibitório.

Análise estatística:

Foi utilizado o programa Microsoft® Excel® para plotagem dos dados e o programa GraphPad Prisma 5.0, versão disponível no computador do Laboratório de

Microbiologia da Instituição, para elaboração dos gráficos e análise descritiva. Foram realizados testes de distribuição percentual, testes de correlação e comparação, para uma melhor interpretação dos resultados.

Resultados

A {figura 3} mostra que 3 cepas de *E. coli*, em um total de 20, foram inibidas na concentração de 200mg/mL do extrato de *C. brasiliense*, enquanto na concentração de 100mg/mL inibiu-se 2 cepas e na de 50mg/mL obteve-se inibição de uma cepa, de modo que a inibição foi diretamente proporcional à concentração do extrato. Nas demais concentrações não se obteve inibição do crescimento bacteriano.

Já a {figura 4} revela que 7, entre 20, cepas de *S. aureus* foram inibidas na concentração de 200mg/mL do extrato de *C. brasiliense*, 5 cepas inibidas na concentração de 100mg/mL, 9 cepas inibidas na concentração de 50mg/mL e 1 cepa inibida na concentração de 25mg/mL. Com exceção do resultado obtido na concentração de 50mg/mL, a inibição mostrou-se diretamente proporcional à concentração do extrato. As demais concentrações não resultaram em inibição do crescimento bacteriano.

Na {figura 5} exibe-se uma análise comparativa da atividade antimicrobiana do extrato de pequi contra as cepas de *E. coli* e *S. aureus*, evidenciando que *Staphylococcus aureus* mais suscetível que *Escherichia coli* à atividade inibitória do fruto, dada a quantidade de amostras inibidas.

Os resultados obtidos, tanto para *E. coli* quanto para *S. aureus* foram positivos, demonstrando que ambas as espécies provavelmente apresentam sensibilidade após o contato in vitro com alguma(s) molécula(s) presente(s) no extrato do mesocarpo interno do pequi (*Caryocar brasiliense*).

Discussão

A literatura científica é bastante contundente em demonstrar a problemática da resistência bacteriana aos antibióticos existentes. Perante essa realidade, faz-se essencial a investigação de abordagens estratégicas, como a etnofarmacologia, ciência que lida com os usos que comunidades tradicionais fazem das espécies

vegetais para fins terapêuticos, que tem se mostrado uma fonte promissora de novos medicamentos¹. Como exemplo de terapia alternativa, descobriu-se que o uso do *Cranberry* auxilia no tratamento das infecções do trato urinário recorrentes, cujo principal patógeno é a bactéria *Escherichia coli*²³. O *Cranberry* possui a capacidade de inibir a adesão das fímbrias de uropatógenos, como a *E. coli*, às células uroepiteliais impedindo a colonização e o crescimento bacteriano²³. Outro exemplo é a *Aureociclina* (flor de pétalas brancas), cujo extrato é um potente antibiótico natural contra *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina²⁴.

Com relação ao fruto utilizado neste trabalho, estudos com ensaios in vitro com um extrato hidroetanólico de folhas de *C. brasiliense* mostraram atividade antibacteriana contra *Enterococcus faecalis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Este extrato mostrou possuir também atividades leishmanicidas e antimicrobianas, inibindo a proliferação de formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*, além de potencial antioxidante análogo às atividades da vitamina C²⁵. Em outro estudo, com extrato da casca de pequi, este foi considerado conservante ou fungicida seguro para controle de fungos fitopatogênicos²⁶. O óleo, extraído do pequizeiro, demonstrou atividade antifúngica, por inibir o crescimento de *Cryptococcus neoformans*.²⁷ Trabalhos realizados por Paula-Junior e colaboradores(2006)²⁸, avaliando a atividade antimicrobiana de extratos etanólicos das folhas e cascas do pequi apresentam capacidade bactericida frente à *E. coli*.

Nos resultados do presente trabalho com o extrato do *Caryocar brasiliense*, houve inibição de 15% das cepas de *E. coli* na maior concentração do extrato, 200mg/mL, 10% das cepas na concentração de 100mg/mL e 5% das cepas na concentração de 50mg/mL, sem ação nas demais concentrações. Em relação à *S. aureus*, inibiu-se 35% das cepas na concentração de 200mg/mL, 25% na concentração de 100mg/mL, 45% na concentração de 50 mg/mL, 5% na concentração de 25 mg/mL e sem ação nas demais concentrações. O percentual de inibição foi diretamente proporcional à concentração do extrato na análise das duas bactérias, com exceção da *S. aureus* com extrato na concentração de 50 mg/mL, que demonstrou maior percentual, sendo um erro de metodologia a hipótese mais provável para justificar esse dado.

Ao comparar o resultado obtido diante das duas bactérias, nota-se que o extrato possuiu maior efeito sobre *S. aureus*, sendo uma possível explicação a estrutura

celular, uma vez que é uma bactéria gram positivo enquanto a *E. coli* pertence às bactérias gram negativo. As bactérias gram-negativas possuem duas membranas ao redor do citoplasma: a membrana interna (MI), envolta por fina camada de peptidoglicano (PG) e a externa (ME)²⁹. Juntas representam uma barreira de permeabilidade, com moléculas hidrofóbicas incapazes de penetrar a ME, exceto se acessar porinas, enquanto a maioria das moléculas hidrofílicas não atravessa a MI, a menos que transportadores específicos estejam disponíveis³⁰. As bactérias Gram-positivas não possuem uma membrana externa protetora, mas as camadas de PG são mais espessas que as de organismos Gram-negativos³¹.

Outra possibilidade para a diferença na resposta ao extrato é que a concentração necessária para obter amplo efeito sobre *E. coli* possa ser maior que a necessária para inibir o *S. aureus*, de maneira que não se pode excluir a probabilidade de o extrato em maiores concentrações atuar com maior êxito na inibição bacteriana.

Perante as limitações desse trabalho e os resultados obtidos, acredita-se na necessidade de realização de novos estudos para maior elucidação sobre o assunto, sendo uma das perspectivas o uso de modelo animal exposto simultaneamente à infecção pelas bactérias utilizadas na pesquisa e ao extrato de pequi.

Conclusão

Concluiu-se que, apesar de pequena, houve atividade antimicrobiana do extrato do *Caryocar brasiliense* nas concentrações de 200mg/mL, 100mg/mL, 50mg/mL e 25mg/mL diante de *S aureus* e nas três maiores concentrações diante de *E. coli*. Um total de 15%, 10% e 5% de cepas de *E. coli* foram inibidas nas concentrações 200mg/mL, 100mg/mL e 50mg/mL, respectivamente, enquanto 35%, 25%, 45% e 5% das cepas de *S. aureus* foram inibidas nas concentrações 200mg/mL, 100mg/mL, 50mg/mL e 25mg/mL, respectivamente.

Referências

1. Haley RW, Culver DH, White JW, Morgan WM, Emori TG, Munn VP, et al. The efficacy of infection surveillance and control programs in preventing nosocomial infections in US. hospital. *Am J Epidemiol.* [internet]. 1985 [acesso em 10 jul. 2018];121:182-205. Disponível em: academic.oup.com/aje/article-abstract/121/2/182/113816
2. Ministério da Saúde (BR). Portaria nº. 2616 de 13 de maio de 1998. Regulamenta as ações de controle de infecção hospitalar no país. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil.* 15 mai. 1998; Seção I.
3. Azambuja EP, Pires DP, Vaz MRC. Prevenção e controle da infecção hospitalar: as interfaces com o processo de formação do trabalhador. *Texto contexto - enferm.* [internet]. 2004 [acesso em 21 jul. 2018];13(esp.):79-85. Disponível em: www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-07072004000500009&lng=en&nrm=iso&tlng=pt
4. Oliveira R, Maruyama SAT. Controle de infecção hospitalar: histórico e papel do Estado. *Rev Eletr Enferm* [internet]. 2008 mai. [acesso em 05 ago. 2018];10(3):775-83. Disponível em: <http://www.fen.ufg.br/revista/v10/n3/v10n3a23.htm>.
5. Posato RS, Parisi MM. Perfil clínico e microbiológico dos casos de infecção hospitalar ocorridos em um hospital de médio porte do noroeste do Rio Grande do Sul. *RBAC* [internet]. 2018 [acesso em 05 jul. 2018];50(3):260-4. Disponível em: www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2019/01/RBAC-vol-50-3-2018-ref-649-final.pdf
6. Panlilio AL, Cuver DH, Gayneas RP, Banerjee S, Henderson TS, Tolson JS et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. hospitals, 1975-1991. *Infect Control Hosp Epidemiol* [internet]. 1992 [acesso em 10 jul. 2018];(13):582-6. Disponível em: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1469266
7. Gelatti LC, Bonamigo RR, Becker AP, d'Azevedo PA. *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade. *An Bras Dermatol* [internet]. 2009 out. [acesso em 05 jul. 2018];84(5):501-6. Disponível em: www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962009000500009
8. Souza MP. *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina. *NewsLab.* 2011 abr.;105(1):120-32.
9. Rubin RJ, Harrington CA, Poon A, Dietrich K, Greene JA, Moiduddin A. The economic impact of *Staphylococcus aureus* Infection in New York City Hospitals. *Emerg Infect Dis* [internet] 1999 [acesso em 05 jul. 2018];5(1):9-17. Disponível em: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10081667
10. Andriolo A. *Guia de medicina ambulatorial e hospitalar: medicina laboratorial.* São Paulo: Manole; 2005.

11. Andrade SS, Sader HS, Jones RN, Pereira AS, Pignatari ACC, Gales AC. Increased resistance to first-line agents among bacterial pathogens isolated from urinary tract infections in Latin America: time for local guidelines?. Mem. Inst. Oswaldo Cruz [internet]. 2006 nov. [acesso em 05 jul. 2018]; 101(7):741-48. Disponível em: www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074
12. 02762006000700006
13. Gales AC, Sader HS, Jones RN, SENTRY Participants Group (Latin America). Urinary tract infection trends in Latin American hospitals: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (1997-2000). Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases [internet]. 2002 [acesso em 10 jul. 2018];44:289-99. Disponível em: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12493177
14. Pinho L, Souza PNS, Sobrinho EM, Almeida AC, Martins ER. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoolicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. Ciência Rural [internet]. 2011 [acesso em 05 jul. 2018];42(2):326-31. Disponível em: www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0103-84782012000200022&lng=en&nrm=iso&tlng=pt
15. Nogueira JCR, Diniz MFM, Lima EO. Atividade antimicrobiana in vitro de produtos vegetais em otite externa aguda. Rev. Bras. Otorrinolaringol. [internet]. 2008 fev. [acesso em 10 jul. 2018];74 (1):118-24. Disponível em: www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-72992008000100019
16. Almeida SP, Silva JA: Piqui e buriti: importância alimentar para a população dos cerrados. Planaltina: Embrapa-CPAC; 1994.
17. Collevati RG, Grattapaglia D, Hay JD. Evidences for multiple maternal lineages of Caryocar brasiliense populations in the Brazilian Cerrado based on the analysis of chloroplast DNA sequences and microsatellite haplotype variation. Mol Ecol [internet]. 2003 [acesso em 10 jul. 2018];12(1): 105-15. Disponível em: pdfs.semanticscholar.org/de40/0fae3bdbdedf65a6c1ece3831f44f9203308.pdf
18. Franquilino E. Ativos amazônicos. Cosmet Toiletries. 2006;18(5):18-24.
19. Arekemase MO, Kayode RMO, Ajiboye AE. Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Jatropha Curcas Plant against Some Selected Microorganisms. Int J Biology [internet]. 2011 ago. [acesso em 10 jul. 2018];3(3):52-9. Disponível em: www.researchgate.net/publication/278521226_Antimicrobial_Activity_and_Phytochemical_Analysis_of_Jatropha_Curcas_Plant_against_Some_Selected_Microorganisms
20. Hentz SM, Santin NC. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim (Rosmarinus officinalis L.). Evidência [internet]. 2007 [acesso em 10

jul. 2018];7(2):93-100. Disponível em:
portalperiodicos.unoesc.edu.br/evidencia/article/view/1863

21. Ramos RS, Sarmiento PA, Lins TH, Lúcio IML, Conserva LM, Bastos MLA. Atividade antimicrobiana in vitro dos extratos hexânico e etanólico das folhas de *Zeyheria tuberculosa*. Rev Rene [Internet]. 2012 [acesso em 10 jul. 2018];13(5):1015-24. Disponível em:
www.periodicos.ufc.br/rene/article/view/4085/3193
22. Bebear C, Robertson J. Determination of the minimal inhibitory concentration. In: Tully JG, Razin S. (eds). Molecular and Diagnostic Procedures in Mycoplasma. San Diego: Academic Press; 1996.
23. Bastião DWF. Epidemiologia e fatores de risco associados à colonização por VRE e MRSA em uma unidade de terapia intensiva em adultos. [Dissertação]. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia; 2010.
24. Pina A, Figueiredo AR, Campos A, Ferreira CP, Lopes I, Alves NF, et al. Arando na profilaxia das infecções urinárias recorrentes: revisão baseada na evidência. Rev Port Clin Geral [internet]. 2011 set. [acesso em 10 jul. 2018];27:452-7. Disponível em: www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0870-71032011000500007
25. Marinho I. A cura que vem da Natureza. Inov pauta [internet]. 2013 [acesso em 10 jul. 2018];12:28-32. Disponível em:
www.finep.gov.br/images/revista/revista12/index.html#p=32
26. Paula-Ju W, Rocha FH, Donatti L, Fadel-Picheth CMT, Weffort-Santos AM. Atividades leishmanicida, bactericida e antioxidante do extrato hidroetanólico das folhas de *Caryocar brasiliense* Cambess. Rev bras farmacogn [internet]. 2006 dez. [acesso em 05 jul. 2018];16(Suppl):625-30. Disponível em:
www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-695X2006000500007&script=sci_abstract&tlng=pt
27. Franquilino E. Ativos amazônicos. Cosmet Toiletries. 2006;18(5):18-24.
28. Passos XS, Santos SC, Ferri PH, Fernandes OFL, Freitas PT, Garcia ACF et al. Atividade antifúngica de *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) sobre *Cryptococcus neoformans*. Rev Soc Bras Med Trop [internet]. 2002 nov.-dez. [acesso em 10 jul. 2018];35(6):623-27. Disponível em:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822002000600013
29. Paula-Junior W, Rocha FH, Donatti L, Fadel-Picheth CMT, Weffort-Santos AM. Leishmanicidal, antibacterial and antioxidant activities of *Caryocar brasiliense* Cambess leave hydroethanolic extract. Braz Jour Pharm. 2006;16:625-30.
30. Robinson JA. folded synthetic peptides and other molecules targeting outer membrane protein complexes in gram-negative bacteria. Front Chem [internet]. 2019 fev. [acesso em 20 mar. 2019];7:45. Disponível em:

www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6372539/

31. Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol Mol Biol Rev* [internet]. 2003 dez. [acesso em 05 jul. 2018];67(4):593-656. Disponível em: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14665678
32. Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The Bacterial Cell Envelope. *Cold Spring Harb Perspect Biol* [internet]. 2010 mai. [acesso em 10 jul. 2018]. 2(5):a000414. Disponível em: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2857177/

Figuras: 3, 4 e 5

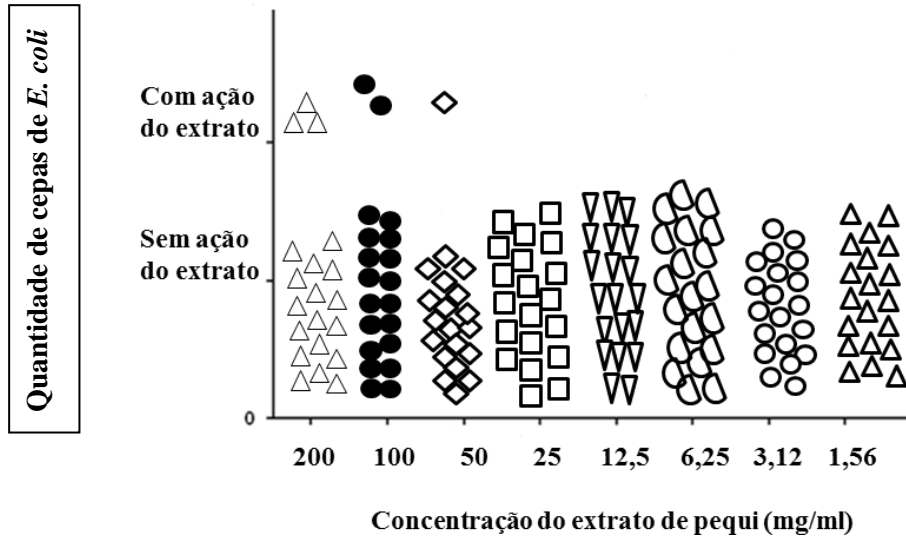


Figura 3: Perfil de sensibilidade de cepas de *E. coli* a diferentes concentrações do extrato de *Caryocar brasiliense*. Vinte cepas de *Escherichia coli* coletadas de pacientes com infecção hospitalar foram colocadas em placas de 96 poços contendo meio de cultura *Müller Hunton* e o extrato de *Caryocar brasiliense* para a realização do teste da microdiluição. Após o período de incubação, adicionou-se 20 μ L do revelador cloreto de 2,3,5- trifênil tetrazólico (TTC) A 2,5% em todos os poços para a avaliação do crescimento microbiano por aspectos colorimétricos. Após a análise da placa, os valores foram plotados no programa GraphPad Prisma 5.0 para a elaboração dos gráficos de dispersão.

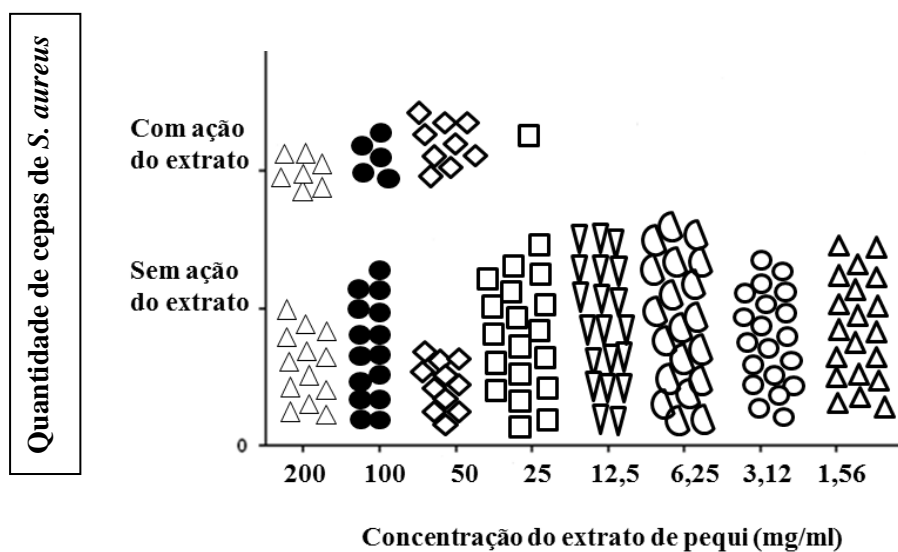


Figura 4: Perfil de sensibilidade de cepas de *S. aureus* a diferentes concentrações do extrato de *Caryocar brasiliense*. Vinte cepas de *Staphylococcus aureus* coletadas de pacientes com infecção hospitalar foram colocadas em placas de 96 poços contendo meio de cultura *Müller Hinton* e o extrato de *Caryocar brasiliense* para a realização do teste da microdiluição. Após o período de incubação, adicionou-se 20 μ L do revelador cloreto de 2,3,5- trifênil tetrazólico (TTC) A 2,5% em todos os poços para a avaliação do crescimento microbiano por aspectos colorimétricos. Após a análise da placa, os valores foram plotados no programa GraphPad Prisma 5.0 para a elaboração dos gráficos de dispersão.

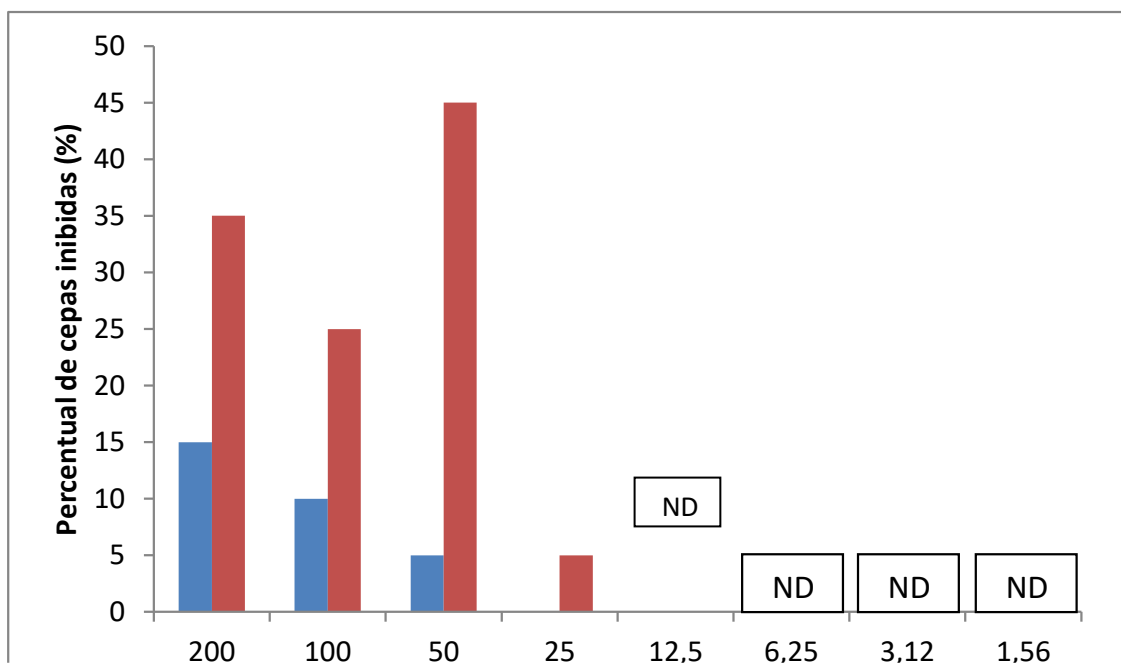


Figura 5: Análise comparativa da atividade antimicrobiana do extrato de pequi contra as cepas de *E. coli* e *S. aureus*. Vinte cepas de *Escherichia coli* e vinte cepas de *Staphylococcus aureus* coletadas de pacientes com infecção hospitalar foram colocadas em placas de 96 poços contendo meio de cultura *Müller Hunton* e o extrato de *Caryocar brasiliense* para a realização do teste da microdiluição. Após o período de incubação, adicionou-se 20 µL do revelador cloreto de 2,3,5- trifênil tetrazólico (TTC) A 2,5% em todos os poços para a avaliação do crescimento microbiano por aspectos colorimétricos. Após a análise do crescimento microbiano nas placas, os resultados observados foram comparados e utilizou-se o programa Microsoft® Excel® 2016 para plotagem dos dados e formulação de um gráfico em barras para possibilitar uma análise comparativa do comportamento do extrato diante de amostras de *E. coli* e de *s. aureus*.