



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA - UEPB
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS
CURSO DE FARMÁCIA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE
CUCURBITA PEPO L. SOBRE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*,
PSEUDOMONAS AERUGINOSA E *ESCHERICHIA COLI*.**

Michelle Vanessa Soares de Farias

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rossana Miranda Cruz Camello Pessoa

CAMPINA GRANDE – PB

2012

MICHELLE VANESSA SOARES DE FARIAS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE
CUCURBITA PEPO L. SOBRE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*,
PSEUDOMONAS AERUGINOSA E *ESCHERICHIA COLI*.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado na forma de Monografia ao Departamento de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rossana Miranda Pessoa Antunes

CAMPINA GRANDE – PB

2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

F224a Farias, Michelle Vanessa Soares de.
Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato de *Cucurbita pepo* L. sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*. [manuscrito] / Michelle Vanessa Soares de Farias. – 2012.

28 f. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2012.

“Orientação: Profª. Dra. Rossana Miranda Cruz Camello Pessoa, Departamento de Farmácia.”

1. Plantas medicinais. 2. Atividade antimicrobiana. 3. Fitoterapia. 4. Abóbora. I. Título.

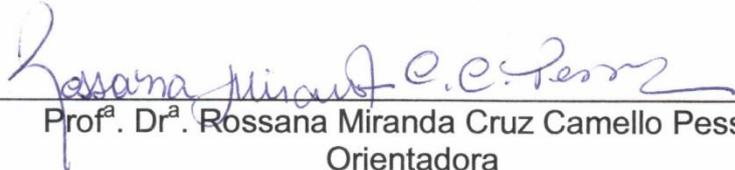
21. ed. CDD 579

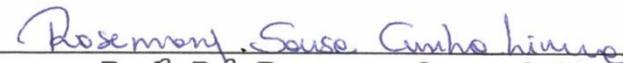
MICHELLE VANESSA SOARES DE FARIAS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO
DE CUCURBITA PEPO L. SOBRE STAPHYLOCOCCUS AUREUS,
PSEUDOMONAS AERUGINOSA E ESCHERICHIA COLI.**

Aprovado em 01 de Novembro de 2012

BANCA EXAMINADORA


Prof.^a. Dr.^a. Rossana Miranda Cruz Camello Pessoa
Orientadora
Departamento de Farmácia/CCBS/UEPB


Prof.^a. Dr.^a. Rosemary Sousa C. Lima
Examinadora
Departamento de Farmácia/CCBS/UEPB


Prof.^a. Dr.^a. Lindomar de Farias Belém
Examinadora
Departamento de Farmácia/CCBS/UEPB

DEDICATÓRIA

A Deus toda honra e glória e aos meus pais Inácio e Valéria, pelo amor, investimento, incentivo e confiança, DEDICO.

AGRADECIMENTO

Ao meu amado Deus que sempre esteve presente cuidando da minha vida. A Ele sou grata de todo meu coração.

Aos meus amados pais Inácio e Valéria, pelo amor incondicional e pelo brilho nos seus olhos quando me olham. Agradeço a Deus por me permitir crescer no seu seio.

Aos meus irmãos Monalisa e Lucas, que mesmo inconscientemente me incentivaram a correr atrás dos meus objetivos, agradeço de coração.

Ao meu esposo Thiago com quem aprendi o verdadeiro sentido das palavras “companheirismo” e “partilha”. Ele esteve sempre presente me incentivando e nunca me deixou desmoronar.

À minha orientadora, Professora Doutora Rossana Miranda, que me aceitou, orientou e apoiou com a sua sabedoria.

A todos os meus professores que são os maiores responsáveis por eu estar concluindo esta etapa da minha vida, compartilhando a cada dia os seus conhecimentos conosco.

Aos meus colegas de turma de Farmácia 2008.1 que, além de se tornarem amigos me ensinaram a conviver com pessoas diferentes a mim.

Obrigada a todos vocês por participarem desta minha etapa, pois direta, ou indiretamente me fizeram crescer, tanto pessoalmente como profissionalmente.

FARIAS, M.V.S. Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato de *Cucurbita pepo* L. sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*. – Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso), Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, Campina Grande, 2012.

RESUMO

Historicamente o termo antimicrobiano foi descrito primariamente com referência as plantas que tinham capacidade de degradar agentes causadores de doenças ou que possuíam capacidade de estimular o sistema imune. Com a ampla utilização dos antimicrobianos convencionais, diversas cepas bacterianas desenvolveram resistência adquirida, ou seja, mudanças que se processaram na sensibilidade dos microrganismos, que de sensíveis tornaram-se resistentes às drogas antimicrobianas. Um dos maiores desafios da comunidade científica tem sido o estudo de medicamentos, que sejam capazes de aumentar o tempo em que os microrganismos levam para adquirir resistência aos princípios ativos, que praticamente não produzam reações adversas e tenham um amplo alcance terapêutico sem prejudicar o hospedeiro, fator preponderante no incentivo a busca por antimicrobianos de ocorrência natural. O objetivo deste trabalho foi o de avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólicos das folhas, frutos e casca da *Cucurbita pepo* L. sobre cepas de *Staphylococcus aureus* (American Type Culture Collection - ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922). Os testes de sensibilidade microbiana aos extratos vegetais foram realizados pela técnica de difusão em disco. Os resultados demonstraram ausência de atividade antimicrobiana frente às cepas testadas visto que não foi observada a formação de halos de inibição crescimento. Sugere-se o desenvolvimento de novas pesquisas utilizando outras metodologias para a real afirmação referente à existência ou não de atividade antimicrobiana, com intuito de assegurar esses resultados.

Palavras chave: atividade antimicrobiana, *Cucurbita pepo* L., *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*.

FARIAS, M.V.S. Evaluation of antimicrobial activity of the extract of *Cucurbita pepo* L. against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*. - Monography (Paper), Universidade Estadual da Paraíba – UEPB (State University of Paraíba), Campina Grande, 2012.

ABSTRACT

Historically, the term antimicrobial was primarily described as a reference to the plants that had either the capacity to degrade the disease-causing agents or the ability to stimulate the immune system. With the extensive use of conventional antimicrobials, various bacterial strains have developed acquired resistance, that is, changes that took place in the sensitivity of microorganisms that made them resistant to antimicrobial drugs. One of the greatest challenges of the scientific community has been the study of drugs that are capable of increasing the time that the microorganisms take to acquire resistance to the active principles, that virtually do not produce adverse reactions, and that have a broader therapeutic range without harming the host, which is a major factor in encouraging the search for naturally occurring antimicrobials. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial activity of hydroalcoholic extracts of the leaves, fruits and skins of the *Cucurbita pepo* L. against the strains of *Staphylococcus aureus* (American Type Culture Collection - ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), and *Escherichia coli* (ATCC 25922). Microbial sensitivity tests in relation to the referred extracts were performed by using the disk diffusion technique. The results showed the lack of antimicrobial activity against the tested strains for it was not observed the formation of halos of growth inhibition. It is suggested the development of new kinds of research using other methodologies to make it possible to state if there is or not antimicrobial activity, in order to ensure these results.

Keywords: antimicrobial activity, *Cucurbita pepo* L., *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	I
1. INTRODUÇÃO	09
2. OBJETIVOS	11
2.1 Objetivo Geral	11
2.2 Objetivos Específicos	11
3. REFERENCIAL TEÓRICO	12
3.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	12
3.2 <i>Escherichia coli</i>	13
3.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15
3.4 Plantas Medicinais	15
3.5 <i>Cucurbita pepo</i> L.	16
3.6 Descrição botânica, princípio ativo e atividade biológica da planta testada	17
3.7 Descrição do município de Alagoa Nova onde foi cultivada a <i>Cucurbita pepo</i> L.	18
4. METODOLOGIA	19
4.1 Material Vegetal	19
4.2 Microorganismo Testado	19
4.3 Local de realização dos experimentos	19
4.3.1. Preparação dos extratos	19
4.3.2. Cepas microbianas	19
4.4 Meios de cultura	20
4.5 Preparação dos extratos de <i>Cucurbita pepo</i> L.	20
4.6 Procedimentos Microbiológicos	21
4.6.1. Suspensão microbiana e inóculo	21
4.6.2. Método de difusão em disco	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
6. CONCLUSÃO	24
REFERÊNCIAS	25

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** *Curcubita pepo* L. (abóbora) 18
- Figura 2.** Extratos hidroalcoólico de *Cucurbita pepo* L. 21
- Figura 3.** Figura 3 - Ensaio de atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólico da abóbora na concentração inicial (100%) frente às cepas ATCC. 23

1. INTRODUÇÃO

Os microrganismos tem sido responsáveis pelas doenças endêmicas e epidêmicas, portanto, tiveram um papel histórico no que se refere aos problemas de saúde. Com o surgimento dos antibióticos produzidos pela indústria farmacêutica em meados do século XX, acreditava-se no controle das infecções. Todavia, o uso irracional dos agentes antimicrobianos foi responsável por gerar mudanças na estrutura genética das bactérias atenuando a patogenicidade, ou seja, tornando-as resistentes apesar da disponibilidade de antibióticos eficazes (Trabulsi e Alterthum, 2005).

Frente a este problema, uma estratégia atual no tratamento de doenças causadas por bactérias vem sendo buscar possibilidades que visem minimizar danos à saúde e maior ação contra processos infecciosos, tendo em vista que alguns antibióticos convencionais têm perdido a eficácia na sua atividade.

Neste contexto, de acordo com OBI et al. (2009), “a alternativa resulta, na busca de novos antibióticos de moléculas orgânicas provenientes de plantas com propriedades antimicrobianas”.

Certas espécies de vegetais tem sido responsáveis por apresentarem na sua constituição propriedades biológicas ativas, pelas quais são responsáveis pelo fornecimento de substâncias que atuam na prevenção, no tratamento e na cura de várias doenças. Conforme Montanari e Bolzani, (2001), “as plantas constituem-se num enorme laboratório de síntese orgânica, frutos de milhares de anos de evolução e adaptação sobre a terra”. Dessa maneira, é necessária a busca do conhecimento a respeito dos efeitos benéficos dos fitoconstituintes.

A abóbora (*Cucurbita pepo* L.), planta nativa da América Central, é uma herbácea anual muito cultivada de consumo nacional e mundial (Silva, 2003). As partes que podem ser utilizadas da abóbora são as folhas, a polpa e as sementes, as quais contêm substâncias em sua composição química capaz de possuir diversas atividades biológicas (Silva et al, 2003., Lima et al 2006 ., Lima e Lopes, 2008).

Segundo Sousa, (2008), “no Brasil de acordo com a Pesquisa de Orçamento Familiar-POF (IBGE, 1991), o consumo per capita de abóbora aumentou de 1,4 kg

para 4,6 kg entre os anos de 2002 e 2003”, confirmando sua fácil acessibilidade e importância.

Vale ressaltar que embora o agente antimicrobiano seja de origem vegetal, este poderá progressivamente provocar resistência microbiana. No entanto, o medicamento a base de extratos de origem natural tem demonstrado vantagens, em relação aos medicamentos sintéticos, por desencadear de maneira mais lenta a resistência bacteriana, além de atuar especificamente e não agredir o ambiente tornando os fitoterápicos alvos de pesquisa (Sousa et al, 2008).

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL

Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólicos das folhas, da polpa, da casca e das sementes da *Cucurbita pepo* L. sobre cepas de *Staphylococcus aureus* (American Type Culture Collection - ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Escherichia coli* (ATCC 25922).

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter o extrato hidroalcoólico utilizando as seguintes partes vegetais: folhas, polpa, casca e sementes frescas e secas da *Cucurbita pepo* L.;
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos das diferentes partes da planta frente às cepas mencionadas quando expostas a cada extrato;
- Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos ativos sobre as respectivas cepas;
- Comparar as cepas quanto o grau de sensibilidade aos extratos testados.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

Um dos maiores desafios no que se refere ao desenvolvimento da sociedade é realizar a promoção e proteção à saúde, pois estas ações são essenciais para a melhoria da qualidade de vida da população. Dessa maneira é importante destacar que o conhecimento tradicional aliado a pesquisas científicas fitoterápicas podem seguramente contribuir para descoberta de novas possibilidades de tratamentos para diversos agentes etiológicos (Eldim et al, 2001).

Em meados do século XX foi desenvolvida a quimioterapia antimicrobiana pela indústria farmacêutica. Contudo, o uso indiscriminado de antibióticos devido à disponibilidade e a publicidade geraram o uso irracional desses medicamentos, desenvolvendo resistência a diversas cepas bacterianas e mesmo com o uso de antibióticos considerados convencionais (Sader et al, 2001).

A fitoterapia é uma ciência milenar que atravessou diversas fases da medicina desde, os tempos mais antigos até a atualidade, vale ressaltar que historicamente o termo antimicrobiano foi descrito primariamente com referência as plantas que tinham capacidade de degradar agentes causadores de doenças ou que possuíam capacidade de estimular o sistema imune (Eldim et al, 2001).

Os *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* são agentes patogênicos de importância epidemiológica responsáveis por diferentes processos infecciosos, cuja contaminação pode ser direta ou indireta em indivíduos saudáveis ou imunodeprimidos. Estas espécies microbianas são alvos do presente estudo (Tortora et al, 2008).

3.1 *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* pode ser incluído como uma das mais importantes bactérias que representa alto nível de morbidade e mortalidade em infecções hospitalares e comunitárias (Gelatti et al, 2009).

A espécie *Staphylococcus aureus* pertencente à família Micrococaceae e gênero *Staphylococcus*, são bactérias cocos Gram positivos agrupadas em cachos de uva; não-fastidiosas; aeróbios ou anaeróbios facultativos; as suas colônias possuem pigmentos que variam de branco a amarelo e são catalase positivo. Os

fatores de virulência estão presentes na superfície celular que é composta de peptidoglicano, ácido teóico, proteína A, toxinas e a presença de enzima onde se destaca a enzima coagulase positiva que confere sua característica marcante, pela qual a diferencia das demais espécies de estafilococos (Tortora et al, 2008).

O *Staphylococcus aureus* é encontrado na microbiota normal do corpo humano, no entanto, quando esta bactéria é transferida para outra região ou órgão sensível pode causar infecções. As infecções estafilocócicas graves estão presentes nos hospitais sendo reconhecido pela sua grande capacidade de sofrer mutações em seus genes e também adquirir resistência de outras bactérias da mesma espécie, dessa maneira, tornando-se resistente a vários antibióticos de escolha. O *Staphylococcus aureus* é um patógeno causador de abscesso; intoxicação alimentar; síndrome de choque tóxico; gastroenterite estafilocócica; síndrome de pele escaldada; impetigo bolhoso, foliculite que por sua vez pode progredir para o furúnculo e depois para carbúnculo; endocardite; bacteremia; osteomielite (Trabulsi e Alterthum, 2008).

3.2 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* pertence à família *Enterobacteriaceae* é uma bactéria gram negativa com formato de bacilo, esta faz parte da microbiota normal do trato gastrointestinal. No entanto, existem determinadas cepas causadoras de doenças, tais como, infecção no trato urinária, septicemia, meningite em neonatal e mais frequentemente associado com a "diarréia dos viajantes", uma diarreia aquosa.

Os subtipos patogênicos de *Escherichia coli* estão no quadro abaixo:

Quadro1: Principais subtipos de *Escherichia coli*.

Subtipos de <i>Escherichia coli</i>	Pode provocar
<i>Escherichia coli</i> Enteropatogênica (EPEC)	Distúrbios gastrointestinal provocando diarreia não sanguinolenta, em determinadas épocas, associadas a “diarreia de verão”, estudos evidenciam que a EPEC tem como reservatório principal o homem
<i>Escherichia coli</i> Produtora e toxina Shiga (STEC)	Pode causar uma variedade de doenças no homem desde casos de diarreias que não apresentam sintomas a casos graves de colite hemorrágica podendo evoluir para síndrome hemolítica urêmica.
<i>Escherichia coli</i> Enteroagregativa (EAEC)	A maior característica desta é que as bactérias se dispõem como tijolos empilhados, sua infecção é típica com manifestações de diarreia secretora aquosa e com muco, podendo ocasionar febre e vômito.
<i>Escherichia coli</i> Enterotoxigênica (ETEC)	Apresenta capacidade de produzir enterotoxina termolábil e termoestável, responsável por causar diarreias brandas a graves principalmente em crianças menores de cinco anos.
<i>Escherichia coli</i> Enteroinvasora (EIEC)	Importante causador de diarreias em crianças menores de dois anos e adultos e responsáveis por invadir células provocando infecções semelhantes ao de outra espécie chamada <i>Shigella</i> .
<i>Escherichia coli</i> que Causa Infecções extra-intestinais (ExPEC- <i>Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli</i>)	Neste grupo estão incluídos as bactérias comensais da flora intestinal e também as cepas enteropatógena extra-intestinais capazes de provocar uma diversidade de doença em vários locais do corpo humano, como, meningite, infecções do trato urinário, infecções intra-abdominais, pneumonias, septicemias e dentre outras.

FONTE: TRABULSI E ALTERTHUM, 2008.

3.3 *Pseudomonas aeruginosa*

As bactérias que pertencem ao gênero *Pseudomonas* são bacilos gram negativos, não fermentadores e considerados oportunistas causando infecções em pessoas imunodeprimidas (Jawetz ET al., 1998).

Pseudomonas aeruginosa é encontrada em diversos ambientes principalmente em hospitais, sendo considerado um patógeno de grande relevância no que diz respeito a infecções hospitalares. Esta bactéria cresce em meios de culturas simples devido a sua versatilidade nos requerimentos energéticos e nutricionais (Trabulsi e Alterthum, 2008)..

Sua patogenicidade deve-se principalmente à resistência adquirida em relação aos antibióticos tornando difícil sua erradicação. Inicialmente, a infecção por *Pseudomonas aeruginosa* requer alteração no sistema de primeira linha, sendo resultado de: interrupção nas barreiras cutâneas ou das mucosas, como, por exemplo, traumas, queimaduras, o uso de cateteres; imunodepressão de ordem terapêutica, clínica ou fisiológica (Trabulsi e Alterthum, 2008).

De modo geral, conforme pode ser visto os antimicrobianos tem se tornado progressivamente incapazes de atuar no sitio de ação das bactérias, ou seja, os microrganismos têm desenvolvido mecanismos cada vez mais complexos adquirindo e transmitindo aos demais descendentes mutações conferindo resistência aos quimioterápicos antimicrobianos. Deve salientar que a automedicação, uma vez que gera aumento da resistência bacteriana gera um problema de saúde pública (Violante, 2008).

3.4 Plantas Medicinais

Os produtos naturais utilizados como medicamento é antigo fazendo parte da própria historia das civilizações. Isso se deve a produção comprovada de propriedades produzida durante o metabolismo secundário (Catão et al. 2009).

O uso de plantas medicinais é uma opção medicamentosa de baixo custo para aquisição. Por conseqüência, esse baixo preço possibilita que a população tenha um maior acesso ao produto, aumentando as chances de continuidade do

tratamento antimicrobiano, fator imprescindível na terapêutica contra as bactérias patogênicas (Catão et al. 2005).

De acordo com Schulz, (2002) “uma parte significativa de todos os medicamentos usados atualmente é derivada, direta ou indiretamente, de princípios ativos que foram isolados de plantas”.

Considerando que os vegetais constituem uma gama de substância com propriedade ativa, é importante a realização de estudos que avaliem a possível ação dos compostos de origem natural sobre as bactérias para o desenvolvimento de novos antibióticos, e como sucedâneo ao tratamento convencional, tendo como principal meta a melhoria da qualidade de vida, minimizando os impactos à saúde (Catão et al. 2005).

O tratamento à base de plantas medicinais apresenta alto grau de confiança de uma boa parte da população, é imprescindível a verificação das suas respectivas atividades biológicas e, por conseguinte ganhar maior aceitação entre os profissionais de saúde (SCHULZ, 2002).

3.5 *Cucurbita pepo* L.

As abóboras (*Cucurbita pepo* L.) pertencem à família Cucurbitaceae existindo 760 espécies no mundo inteiro, sua família incluem pepinos, melões, melancias e dentre outras (Souza, 2008). Esse fruto é muito utilizado na culinária apresentando boa digestibilidade e considerável teor de minerais, muito cultivada também para fins decorativos e na medicina tradicional (LIMA, 2008).

De acordo com Schulz (2002), “as sementes das abóboras têm sido usada há longo tempo na medicina popular, especialmente, no sul da Europa, como medicamento para bexiga irritável e hiperplasia prostática benigna”. Contudo ainda não foram identificados todos os constituintes responsáveis pela terapêutica onde é baseado o conhecimento empírico, havendo a necessidade de mais estudos que comprovem tal eficácia.

Neste contexto, a flora medicinal tem proporcionado maiores chances de obtenção de moléculas protótipos, sabe-se que o vegetal em sua particularidade é capaz de produzir diversas substâncias com propriedades medicinais que podem

curar algumas enfermidades (Brito, 2006). Além de contribuir concomitantemente para manter a homeostasia, ou seja, atuar na manutenção saudável do organismo, por isso o interesse pelo desenvolvimento de pesquisa científica buscando investigar a ação terapêutica das plantas medicinais (Corrêa et al.2008)

3.6 Descrição botânica, princípio ativo e atividade biológica da planta testada

Espécie: *Cucurbita pepo* L.

Sinonímia: aboboreira, abobra, jerimum-de-leite, abóbora-amarela, abóbora-moganga, abóbora-moranga, abóbora de porco.

Família: Curcubitaceae.

Habitat e distribuição: Planta herbácea anual; nativa da América central e do México; muito cultivada; comum no mercado brasileiro.

Descrição: Planta herbácea, rasteira, com ramos carnosos e com pêlos; as folhas são peltadas com pêlos ásperos; as flores são solitárias e grandes, de coloração amarelo-alaranjado; os frutos são grandes e de forma diversas.

Figura 1 - *Cucurbita pepo* L. (abóbora)



FONTE: WWW.PROTA4U.ORG

Cultivo: Plantadas a partir de sementes em local definitivo.

Contraindicação: Não há relatos.

Interações medicamentosas: Não há relatos.

Reações adversas: Não há relatos.

Toxicologia: Não há relatos nas doses terapêuticas e usos indicados.

Parte utilizada: Folhas, sementes e polpa.

Princípio ativos: Sementes: óleo essencial; albuminas.

Glicosídeo: curcubitina; resina.

Sais minerais: zinco entre outros.

Polpa: açúcares, albumina, gorduras

Vitaminas: C

Ácidos: hidrociânico, salicílico, Aminoácidos; carotenóides; flavonóides; tanino; pectina; oligoelementos; minerais; vitaminas.

Principais componentes: curcubitina, curcubitacina E, trigonelina, óleo gordo(35-40%) com glicerídeo de ácidos insaturados, fitosteróis livres e combinados (1%), γ -tocoferol.

Atividades biológicas: Anti-helmíntico, bactericida, diurético, emoliente, estomáquica, hepática, purgante, antiinflamatório, umectante, perturbações miccionais associadas a adenoma prostático, prostatite (Silva et al, 2003., Lima et al, 2006., Lima e Lopes, 2008).

3.7 Descrição do município de Alagoa Nova onde foi cultivada a *Cucurbita pepo L.*

Altitude: 130 (m)¹

Latitude: 7° 40'

Longitude: 35° 47'

Clima: Ameno, característico do brejo de altitude.

Vegetação: Típica do agreste, formada por Florestas Subcaducifólica e Caducifólica

Solo: Areia total: 634 g kg⁻¹

Silte: 127 g kg⁻¹

Argila: 239 g kg⁻¹

Textura: Franco argiloso-arenosa

Densidade do solo: 1.50 g cm⁻³

Densidade real: 2.68 g cm⁻³

Porosidade total: 44,02% (Cavalcante et al. 2009).

4. METODOLOGIA

4.1 Material Vegetal

Foram utilizados extratos hidroalcoólicos das folhas, da polpa, da casca e das sementes preparados a partir da *Cucurbita pepo* L., é um fruto pertencente à família cucurbitácea comum no mercado brasileiro.

A planta escolhida foi selecionada através de levantamento bibliográfico de pesquisas envolvendo esta espécie de vegetal e micro-organismos ATCC responsáveis por afecções humanas. O material vegetal foi devidamente reconhecido e uma alíquota foi depositada no Herbário Arruda Câmara da Universidade Estadual da Paraíba.

4.2 Microorganismo Testado

Foram utilizadas cepas de microbianas testadas provenientes da American Type Culture Collection (ATCC): *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

4.3 Local de Realização dos Experimentos

4.3.1. Preparação dos Extratos

Os extratos foram preparados na Farmácia de homeopatia-GRAL & Cia cedidos pela proprietária.

4.3.2. Cepas microbianas

As cepas utilizadas foram cedidas pelo Laboratório de Pesquisa em Microbiologia do Departamento de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB.

4.4 Meios de Cultura

Foi utilizado o Caldo de enriquecimento BHI (Brain Heart Infusion) e para o cultivo bacteriano o meio Ágar Müller-Hinton do fabricante DIFICO®.

Este meio de cultura foi preparado de acordo com as instruções e recomendações do fabricante DIFICO®, seguindo a distribuição de 20mL do mesmo, em placas de Petri.

4.5. Preparação dos Extratos de *Cucurbita pepo* L.

Os extratos foram obtidos segundo a Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil (1959), utilizando-se o processo de maceração. O álcool etílico hidratado (30 % de água) foi utilizado como solvente, devido a sua baixa toxicidade (não inibindo o bioensaio), seu ótimo desempenho no processo extrativo e sua viabilidade econômica (Eloff et al.1998., Antunes et al. 2001).

O material vegetal foi pesado individualmente (as folhas, a casca, a polpa e as sementes), e vertido sobre os mesmos, em recipiente adequado, volume correspondente a proporção 1:4 de álcool hidratado dando-se início ao processo de maceração que durou oito dias em temperatura ambiente, realizando-se agitações periódicas. Logo após, foi realizado o processo de expressão, correção do volume final, filtração e acondicionamento em vidros de cor âmbar, à temperatura ambiente (Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil, 1959).

Figura 2 – Extratos hidroalcoólico de *Cucurbita pepo* L.



FONTE: DADOS DA PESQUISA.

4.6 Procedimentos Microbiológicos

4.6.1. Suspensão microbiana e inóculo

Durante a realização do ensaio, as cepas foram mantidas em Caldo de enriquecimento BHI (Brain Heart Infusion), a fim de se obter a viabilidade dos microrganismos, para o cultivo bacteriano o meio Ágar Müller-Hinton.

Para o inóculo, as cepas selecionadas foram mantidas nos meios de culturas apropriados, durante 24h/37°C. Os inóculos foram preparados e padronizados em solução fisiológica esterilizada, comparando-se a turbidez com o tubo nº 0,5 da escala Mc Farland a fim de se obter cerca de 10^6 UFC/mL (CLSI, 2005).

4.6.2. Método de difusão em disco

Os testes de sensibilidade microbiana aos extratos vegetais foram realizados pela técnica de difusão em disco.

Com o auxílio de “swabs” estéreis, em placa de Petri contendo Ágar Mueller-Hinton, foram inoculados os microrganismos pela técnica de espalhamento em superfície contendo o inóculo, de modo a se obter um crescimento dos microrganismos confluyente e uniforme.

Posteriormente utilizando-se uma pinça esterilizada, os discos de papel de filtro, estéreis, previamente impregnados com os extratos puro foram distribuídos uniformemente sobre a superfície do Ágar. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas. Os halos de inibição do crescimento formados, após esse período, foram medidos com o auxílio de um halômetro, para verificar a presença ou não de atividade antimicrobiana.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com os extratos hidroalcoólicos das folhas, sementes e polpa da abóbora, após o ensaio por disco difusão demonstraram ausência de atividade antimicrobiana frente às cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 analisadas, visto que não foi observada a formação de halos de inibição crescimento ao redor dos discos embebidos com nenhum dos extratos testados.

Figura 3 - Ensaio de atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólico da abóbora na concentração inicial (100%) frente às cepas ATCC.



Legenda:1- Extrato hidroalcoólico da polpa; 2- Extrato hidroalcoólico da folha;3- Extrato hidroalcoólico da casca;4- Extrato hidroalcoólico das sementes verdes; Disco Central é o controle negativo (solução hidroalcoólico, álcool 70%).

Observou-se que o solvente, álcool 70% para os extratos hidroalcoólicos para os extratos aquosos, utilizados como controle negativo, não interferiram no crescimento das cepas ATCC testadas, uma vez que também não foram visualizados halos de inibição.

Em contrapartida, estudos realizados por Obi et al. (2009), revelaram que em análise fitoquímica o óleo extraído das sementes de *Curcubita pepo* L. que contém taninos, flavonóides, saponinas, glicosídeos cianogênicos e glicósidos cardíaco são responsáveis por produzir efeito antimicrobiano frente as cepas isoladas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Assim foi verificada a sensibilidade através do método semi-quantitativo de Kirby-Bauer, pelo qual, os autores sugeriram o uso do óleo das sementes no tratamento de doenças causadas por tais patógenos.

De acordo com Pinho et al. (2012) “ ausência de atividade antibacteriana pode ser decorrente da concentração do extrato, qualidade das folhas (alterada por condições de solo, sazonalidade, tipo de colheita e teor de ativos)”.

A composição química das plantas pode sofrer influências de acordo com a idade da planta, da sua localização geográfica, das variações climáticas, do tipo do solo onde a planta é cultivada, além da parte da planta estudada e da forma de preparo do material. Isso explica as discrepâncias encontradas entre pesquisas realizadas em diferentes locais, utilizando a mesma metodologia e a mesma espécie de planta.

Tanto Martins et al. (2010) quanto Silva et al. (2007) em trabalhos com a mesma planta podem apresentar resultados distintos em relação a atividade antimicrobiana. De modo que é importante observar se foram utilizadas as mesmas condições experimentais, tais, com: solvente usado na extração dos princípios ativos, o microrganismos testados, discos não pressionados no Agar. Segundo Oplustil et al. (2010) o tempo, temperatura e atmosfera de incubação inadequada são fatores que podem alterar o resultado do antibiograma e conseguinte levar a resultados errôneos e ter influenciado nos resultados do presente estudo.

Outra provável explicação plausível para inatividade dos extratos pode estar intimamente ligado a possível dificuldade de difusão no meio de cultura, quando impregnados nos discos de papel de filtro. De acordo com Violante (2008), "os métodos disponíveis para determinação da atividade antimicrobianos mais utilizados são: difusão, diluição (macro e microdiluições) e bioautográficos. Destes métodos o ensaio por difusão é o que apresenta maiores problemas.

De acordo com Martins et al (2010) os extratos de plantas frequentemente tem baixas propriedades de difusão. Vale ressaltar que a técnica de diluição em caldo é a melhor maneira de estabelecer a real potência de um composto puro, na qual a solubilidade é o requisito que otimiza os resultados.

Haja vista ser necessário novos estudos envolvendo outras metodologias ou com a utilização de extratos extraídos obtidos de outros solventes além da utilização de outras linhagens de patógenos para a real afirmação referente à existência ou não de atividade antimicrobiana da *Cucurbita pepo* L.

6. CONCLUSÃO

De acordo com os dados do presente estudo pode-se concluir que:

- Os extratos hidroalcoólicos das folhas, sementes e polpa da abóbora, após o ensaio por disco difusão demonstraram ausência de atividade antimicrobiana frente às cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 analisadas com a metodologia aplicada.
- Diversos fatores podem ter influenciado no resultado do presente estudo desde a qualidade da planta (alterada por condições de solo, sazonalidade, tipo de colheita), as condições experimentais até a dificuldade de difusão do extrato usado no meio de cultura, quando impregnados nos discos de papel de filtro.
- Não sendo constatada atividade antimicrobiana nos extratos não foi possível a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), nem a comparação quanto ao grau de sensibilidade nos extratos testados.
- Sugere-se o desenvolvimento de novas pesquisas utilizando outras metodologias para a real afirmação referente à existência ou não de atividade antimicrobiana, com intuito de assegurar esses resultados.
- As perspectivas futuras de utilização das substâncias naturais, no controle de patógenos, são promissoras, portanto são recomendáveis novos estudos com a utilização de extratos extraídos obtidos de outros solventes além da utilização de outras linhagens de patógenos.

REFERÊNCIAS

ANTUNES, R. M. P. **Espécies vegetais com atividade antibacteriana sobre bactérias fitopatogênicas da batata**. 84 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) – Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande. 2001.

BRITO, L. **Avaliação comparada da ação anti-helmíntica da batata de purga (*Operculina hamiltonii* (G. Don) D.F Austin & Staples), do melão de São Caetano (*Momordica charantia* L.) e do capim santo (*Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf em caprinos naturalmente infectados**. 2006. 52p. Dissertação de Mestrado em Zootecnia –Universidade Federal de Campina Grande.

BROCK, A. C. K.; DUARTE, M. R.; NAKASHIMA, T. Estudo morfo-anatômico e abordagem fitoquímica de frutos e sementes de *Luffa operculata* Cucurbitaceae. **Visão Acadêmica**, v. 4, n. 1, p. 31 - 37, 2003..

CATÃO, R. M.R.; BARBOSA FILHO, J. M.; LIMA, E. O.; PEREIRA, M. S. V.; SILVA, M. A. R. S.; ARRUDA, T. A.; ANTUNES, R. M. P. Avaliação da atividade antimicrobiana e efeitos biológicos de riparinas sobre eliminação de resistência a drogas em amostras de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, 42(1): 9-14, 2009.

CATÃO, R. M. R.; BARBOSA-FILHO, J. M.; GUTIERREZ, S. J. C.; LIMA, E. D. O.; PEREIRA, M. S. V.; ARRUDA, T. A.; ANTUNES, R. M. P. Avaliação da Atividade Antimicrobiana de Riparinas sobre Cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* Multirresistentes. **RBAC**. v. 37, n.4,p. 247-249, 2005.

CAVALCANTE, L. F.; LIMA, E. M.; FREIRE, J. L. O.; PEREIRA, W. E.; COSTA, A. P. M.; CAVALCANTE, I. H. L.; Componentes qualitativos do cajá em sete municípios do brejo paraibano. **Acta Scientiarum. Agronomy**. v. 31, n. 4, p. 627-632, Maringá, 2009.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUT – CLSI. Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-Difusão. Norma Aprovada – 8ºed. M2-A8, v. 20, n. 1, 2005.

CORRÊA, A. D.; BATISTA, R. S.; QUINCAS, L. E. M. **Plantas Medicinais do cultivo á terapêutica**. 7 ed. Vozes. Petrópolis: RJ, 2008. p.20.

ELDIN, S.; DUNFORD, A. **Fitoterapia na atenção primária à saúde**. 1 ed. Manole. São Paulo: SP, 2001.

ELOFF, J. N. Witch extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants. *Journal of Ethnopharmacology*, p1-8, 1998.

FARMACOPÉIA dos Estados Unidos do Brasil. 2.ed. São Paulo: Siqueira, 1959.

GELATTI, L. C.; BONAMIGO, R. R.; BECKER, A. P.; AZEVEDO, P. A. *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade. **An. Bras. Dermatol.**, v. 84, n. 5, p. 501-506, 2009.

JAWETZ, E.; MELNICK, J. L.; ADELBERG, E. A. **Microbiologia Médica**. 20 ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 1998.

LIMA, A.; LOPES, A. H. N. **Índice terapêutico fitoterápico**. 1 ed. EPUD. Petrópolis: RJ, 2008.

LIMA, J. L. S.; FURTADO, D. A.; PEREIRA, J. P. G.; BARACUHY, J. G. V.; XAVIER, H. S. **Plantas medicinais de uso comum no Nordeste do Brasil**. 1 ed. Mapa. Campina Grande: PB, 2006.

MARTINS, A. G. L.; NASCIMENTO, A. R.; FILHO, J. E. M.; SERRA, J. L.; ANDRADE, L. S.; ARAGÃO, N. E. Efeito Inibitório do Óleo Essencial do Eucalyptus sp., Puro e Associado a Antibióticos, frente a cepas de Escherichia coli e Staphylococcus aureus Isolados de Manipuladores, Alimentos, Areia e Água do mar. **B.CEPPA**, v. 28, n. 1, p. 141-148, Curitiba, jan./jun., 2010.

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S. Planejamento racional de fármacos baseados em produtos naturais. **Quim. Nova**. v. 24, n. 1, p. 105-11, 2001.
Disponível em: < www.geplam.com.br/artigos.htm>. Acesso em: 16/02/2011.

OBI, R. K.; NWANEBU, F. C.; NDUBUISI, U. U.; ORJI, N. M. Antibacterial qualities and phytochemical screening of the oils of *Cucurbita pepo* and *Brassica nigra*. **Journal of Medicinal Plants Research**. V. 3, n. 5, p. 429-432, 2009.

PACKER, J. F.; LUZM, M. M. S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 17, n. 1, p. 102-107, 2007.

PINHO, L.; SOUZA, P. N. S.; SOBRINHO, E. M.; ALMEIDA, A. C.; MARTINS, E. R.; Antimicrobial activity of hydroalcoholic extracts from rosemary, peppertree, *barbatimão* and *erva baleeira* leaves and from *pequi* peel meal. **Microbiologia. Cienc. Rural**: v. 42, n. 2, p. 03-20, 2012.

SADER, H. S.; MENDES S. E.; GALES, A. C.; JONES, R. N.; PFALLER, M. A.; ZOCCOLI, C.; SAMPAIO, J. Perfil de sensibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas do trato respiratório baixo de pacientes com pneumonia internados em hospitais brasileiros. **Journal Pneumol**, v. 27, n. 2, p. 59-67, 2001.

SCHULZ, V.; HANSEL, R.; TYLER, V. E. **Fitoterapia Racional: Um guia de fitoterapia para as ciências da saúde**. 4 ed. Manole. Barueri: SP, 2001.

SILVA, A. P. **Plantas e produtos vegetais em fitoterapia**. 1 ed. Lisboa. São Paulo: SP, 2003.

SILVA, J. G. S.; SOUZA, I. A.; HIGINO, J. S.; SIQUEIRA, J.P.; PEREIRA, J. V. PEREIRA, M. V. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 572-577, 2007.

SOUSA, A. R. M. **Atividade in vitro do extrato etalólico da semente de jerimum (*Cucurbita pepo* L.) e do suco de alho (*Allium sativum* L.) em nematóides gastrintestinais de caprinos**. 2008. 80p. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Campina Grande.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8 ed. Artmed. Porto Alegre: RS, 2008.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5 ed. Atheneu. São Paulo: SP, 2008.

VIOLANTE, I. M. P. **Avaliação do potencial antimicrobiano e citotóxico de espécies vegetais do Cerrado da Região Centro-Oeste**. 2008. 72p. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.