



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE FARMÁCIA**

PRISCILLA DE LUCENA NOGUEIRA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE *Cocos nucifera* L. FRENTE À
CEPAS DE *Staphylococcus aureus***

**CAMPINA GRANDE
2017**

PRISCILLA DE LUCENA NOGUEIRA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE *Cocos nucifera* L. FRENTE À
CEPAS DE *Staphylococcus aureus***

Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia,
da Universidade Estadual da Paraíba, como
requisito parcial à obtenção do título de
bacharel em Farmácia.

Área de concentração: Etnofarmacologia

Orientador: Prof. Dr. Thúlio Antunes de
Arruda

**CAMPINA GRANDE
2017**

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

N778a Nogueira, Priscilla de Lucena.
Atividade antimicrobiana de extratos de Cocos nucifera L.
frente à cepas de Staphylococcus aureus [manuscrito] / Priscilla de
Lucena Nogueira. - 2017.
25 p. : il. color.

Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) -
Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e
da Saúde, 2017.
"Orientação: Prof. Dr. Thúlio Antunes de Arruda,
Departamento de Farmácia".

1. Flora tropical. 2. Plantas medicinais. 3. Fitoterapia. 4.
Atividade antibacteriana. I. Título.

21. ed. CDD 615.321

PRISCILLA DE LUCENA NOGUEIRA

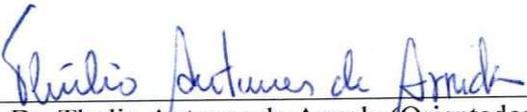
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE *Cocos nucifera* L. FRENTE À
CEPAS DE *Staphylococcus aureus*.

Trabalho de Conclusão de Curso da
Universidade Estadual da Paraíba, como
requisito parcial à obtenção do título de
bacharel em Farmácia.

Área de concentração: Etnofarmacologia.

Aprovada em: 26/04/2017.

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Thulio Antunes de Arruda (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Prof^ª. Dra. Maricelma Ribeiro Moraes (Examinadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Prof^ª. Dra. Lindomar de Farias Belém (Examinadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Corte longitudinal do coco, com suas partes (ERHARDT et al, 1976; FERREIRA et al, 1998).....	11
Figura 2 – Fluxograma dos procedimentos técnicos para a preparação dos extratos hidroalcoólicos.....	15
Figura 3 - Fluxograma dos procedimentos técnicos para a preparação do extrato glicólico.....	15
Figura 4 – Comportamento da cepa de <i>S. aureus</i> (número 11) em relação ao extrato glicólico bruto. (Fonte: Dados da pesquisa).....	20
Figura 5 - Imagem mostrando que não houve halo de inibição na diluição. A cepa representada acima é a número 8, no extrato glicólico e hidroalcoólico 30%. (Fonte: Dados da pesquisa).....	21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – <i>Screening</i> de atividade antibacteriana de extratos puros de <i>Cocos nucifera</i> L. em cepas de <i>S. aureus</i> a partir da técnica de cavidade-placa em meio sólido.....	19
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	06
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	07
2.1	Fitoterapia	07
2.2	Atividade antimicrobiana de plantas.....	08
2.3	<i>Cocos nucifera</i> L.....	09
2.3.1	<i>Uso na medicina popular.....</i>	10
2.3.2	<i>Atividade biológica</i>	10
2.4	<i>Staphylococcus aureus</i>.....	11
3	METODOLOGIA	12
3.1	Local de realização da parte experimental.....	12
3.2	Material vegetal.....	12
3.3	Obtenção dos extratos hidroetanólicos e glicólicos.....	12
3.3.1	<i>Solventes.....</i>	12
3.3.2	<i>Preparação dos extratos.....</i>	12
3.4	Procedimentos microbiológicos.....	14
3.4.1	<i>Microrganismos testados.....</i>	14
3.4.2	<i>Meios de cultura.....</i>	14
3.4.3	<i>Suspensão microbiana e inóculo.....</i>	14
3.4.4	<i>Técnica de difusão em meio sólido.....</i>	14
3.4.5	<i>Determinação da Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima.....</i>	15
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
5	CONCLUSÃO	20
	REFERÊNCIAS.....	21

NOGUEIRA, P. L. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE *Cocos nucifera* L. FRENTE À CEPAS DE *Staphylococcus aureus*.

RESUMO

O uso de plantas medicinais para fins de tratamento, cura e prevenção de enfermidades é um dos costumes mais antigos da prática medicinal da humanidade. A Fitoterapia é o estudo das suas aplicações na cura, prevenção, atenuação ou tratamento de um estado patológico. Atualmente, as plantas vêm ganhando espaço cada vez maior nos tratamentos rotineiros, facilitando a adesão dos pacientes. Segundo estudo etnobotânico prévio, realizado na comunidade Caiana dos Mares, PB, a fibra do fruto de *Cocos nucifera* L. (Coco) é utilizada em preparações utilizadas para lavar ferimentos. Este estudo objetivou verificar a atividade antibacteriana dos extratos hidroalcoólicos e glicólico do coco. Foram preparados extratos hidroalcoólicos nas concentrações 30% e 70% e extrato glicólico 60%, testando-os pela técnica de difusão em meio sólido (processo cavidade-placa). Foram testadas as cepas de *Staphylococcus aureus*, com a realização do *Screening* verificou-se atividade antibacteriana em dois extratos (30% e 60%). Após a diluição, os extratos não inibiram nenhuma cepa. Resultados como estes, propõem que estudos futuros sejam realizados com o intuito de conhecer os responsáveis pela ação antimicrobiana dos extratos que se mostraram ativos frente à *S. aureus*. A partir destes novos ensaios, em diferentes bactérias, pode-se ter um futuro aliado no tratamento antimicrobiano.

Palavras-Chave: Flora tropical; Fitoterapia; Atividade antibacteriana

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais para fins de tratamento, cura e prevenção de enfermidades é um dos costumes mais antigos da prática medicinal da humanidade. Desde que se tem conhecimento das propriedades terapêuticas das plantas, as pessoas as usam das mais variadas formas para preparações de medicamentos, como também em seus rituais, formando parte da sua cultura local (SARAIVA et al, 2015). Apesar de ser utilizada há muito tempo, nas últimas décadas o interesse pela fitoterapia vem crescendo cada vez mais, isso se dá pela busca de alternativas naturais para serem utilizadas para mais diversas finalidades em confronto com o grande avanço tecnológico da indústria farmacêutica.

O estudo de plantas medicinais a partir de seu emprego pelas comunidades pode fornecer informações úteis para a elaboração de estudos farmacológicos e fitoquímicos sobre tais plantas, visando o desenvolvimento de fitoterápicos ou isolamento de substâncias ativas (MIRANDA et al, 2013), o que de uma forma gera grande aceitação dos pacientes por serem medicamentos obtidos de maneira natural, o que fez com que os fitoterápicos se tornassem

uma das alternativas complementares ao tratamento usualmente empregado. (BRUNING; MOSEGUI; VIANNA, 2012).

A partir de estudo etnobotânico realizado na Comunidade Caiana dos Mares, Alagoa Grande-PB (TOLKE, 2014), verificou-se a utilização do chá preparado com as fibras das cascas dos frutos do *Cocos nucifera* L. (Coqueiro) para tratamento externo de feridas e/ou cortes. Verificou-se então, a necessidade de um estudo etnofarmacológico que pudesse corroborar ou não, a utilização na medicina popular deste vegetal.

A etnofarmacologia é o ramo da ciência que se ocupa em estudar o conhecimento popular sobre fármacos de determinado grupo e relacioná-lo a sistemas tradicionais (ELIZABETZKY; SOUZA, 2004). Com base nesse conceito e dos potenciais efeitos terapêuticos das espécies estudadas, esta pesquisa objetivou verificar a atividade antibacteriana dos extratos hidroalcoólicos a 70% e 30% e glicólico das fibras do fruto de *Cocos nucifera* L. frente a cepas de *Staphylococcus aureus* através de uma visão etnofarmacológica sobre a utilização desta planta com fins medicinais.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEORICA

2.1 Fitoterapia

Do grego *therapeia* = tratamento e *phyton* = vegetal, a fitoterapia é o estudo das plantas medicinais e suas aplicações na cura, prevenção, atenuação ou tratamento de um estado patológico. As plantas medicinais são aquelas capazes de aliviar ou curar enfermidades e têm tradição de uso como remédio em uma população ou comunidade.

Esta prática acompanha as sociedades humanas desde os primórdios de sua existência, tendo surgido independentemente em grande parte dos povos, fazendo parte da evolução humana, sendo o primeiro recurso terapêutico utilizado. Datando de 3000 a.C, os primeiros registros encontrados, na Mesopotâmia, relatam o uso de grande variedade de substâncias obtidas de plantas para o tratamento de diversas doenças destacando-se os óleos extraídos das espécies de *Cedrus*, *Comminphora* e de *Papaver* (NEWMAN et al, 2000). Outras civilizações também contribuíram para o que se sabe hoje em relação às plantas, como a China e o Egito Antigo, com documentos importantes como o “Matéria Médica” e o Papiro de Ebers, respectivamente. No Brasil, a utilização de ervas medicinais tem na prática indígena suas bases, que influenciada pela cultura africana e portuguesa, gerou uma vasta cultura popular (ALVES, 2003).

O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza, muitas vezes, o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. As observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais de todo mundo, mantém em voga a prática do consumo de fitoterápicos, tornando válidas as informações terapêuticas que foram sendo acumuladas durante séculos (MACIEL et al., 2002, p. 429).

Apesar dos anos terem passado e com o surgimento dos medicamentos industrializados, os produtos oriundos das plantas ainda apresentam uma grande contribuição na manutenção da saúde e alívio de enfermidades, sendo utilizadas por grande parte da população, substituindo medicamentos tradicionais ou como uma possibilidade de atuar como coadjuvante nos tratamentos alopáticos, desde que sejam levadas em consideração suas possíveis complicações, já que por se tratar de um produto vindo da natureza, é comum se pensar que “não faz mal” como a própria população costuma falar, pensando que seja inofensivo, desconhecendo as propriedades das espécies.

Em 2006, foi publicada a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos sendo detalhadas em 2008 como ações no Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, objetivando “garantir à população o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional.” (DECRETO Nº 5.813)

Desde a criação do programa, os usuários atendidos nos serviços de saúde pública vêm sendo acompanhados em relação a utilização das plantas como tratamento, devido ao fato das evidências científicas relacionadas às reações adversas e efeitos colaterais não chegarem à população por, na maioria das vezes, se tratarem de pessoas com baixo nível de escolaridade. (SILVEIRA et al, 2008). O Ministério da Saúde, em 2016, publicou no site do Governo Federal que a busca por tratamentos à base de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos pelo Sistema Único de Saúde (SUS) subiu 161% entre 2013 e 2015, o que demonstra a grande aceitação por parte dos pacientes, e a adesão dos tratamentos por parte dos prescritores.

As plantas medicinais possuem uma composição que além do(s) princípio(s) ativo(s), possuem outras substâncias que por um lado podem potencializar a ação terapêutica como podem desencadear reações indesejáveis e efeitos colaterais nos pacientes, fazendo-se necessário o conhecimento sobre o tema e sensibilizar profissionais de saúde e população para essa opção terapêutica, permitindo o acesso da população brasileira aos fitoterápicos com eficácia, segurança e qualidade. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016)

2.2 Atividade antimicrobiana de plantas

As propriedades antimicrobianas dos componentes presentes nas plantas foram reconhecidas há vários séculos porém, só recentemente que foram comprovadas cientificamente. Sabe-se que os componentes das plantas mostram-se eficientes com relação ao controle de microrganismos e que também são utilizadas como antioxidantes, anti-inflamatórias, cicatrizantes, antivirais, antipiréticas, etc. A maioria dessas plantas, que são utilizadas com base na cultura e do conhecimento popular, muitas vezes não possuem comprovação científica da sua eficácia terapêutica e de suas propriedades toxicológicas. Com frequência, as propriedades farmacológicas não possuem comprovação pelo fato da escassez de estudos relacionados a constituição e aos extratos dessas plantas.

O reconhecimento de tais propriedades é de suma importância para a população visto que, no caso dos antibacterianos, as bactérias atualmente estão se tornando cada vez mais resistentes e que pesquisas nessa área devem ser mais realizadas para uma possível descoberta de novas alternativas no combate antimicrobiano.

2.3 *Cocos nucifera* L.

Cocos nucifera L., conhecida popularmente como coqueiro, palma de coco ou *coconut palm* (Eng) é talvez a árvore dos trópicos mais reconhecida e uma das mais importantes economicamente (PINO, 2005). É uma planta originária do sudeste da Ásia e de ilhas localizadas entre os oceanos Pacífico e Índico (LIMA et al, 2015). No Nordeste brasileiro, o *C. nucifera* L. tem seu cultivo bastante difundido e seu fruto é utilizado de muitas maneiras, podendo-se aproveitar todas as suas partes (LIMA et al, 2015; FIGUEIRA, 2012).

As partes que compõem o fruto de *C. nucifera* L. são mesocarpo, endocarpo e epicarpo. É formado por uma epiderme lisa ou epicarpo, que envolve o mesocarpo espesso e fibroso. O fruto está envolto numa casca externa (epicarpo) esverdeada ou amarelada que, com o tempo, torna-se seca e castanha. Sob a casca, encontra-se uma camada de fibras com 3 a 5 cm de espessura. O endocarpo é o “núcleo” do fruto, onde está presente uma polpa branca oleosa e um líquido chamado popularmente de água de coco, ambos com alto valor nutricional (LIMA et al, 2015).

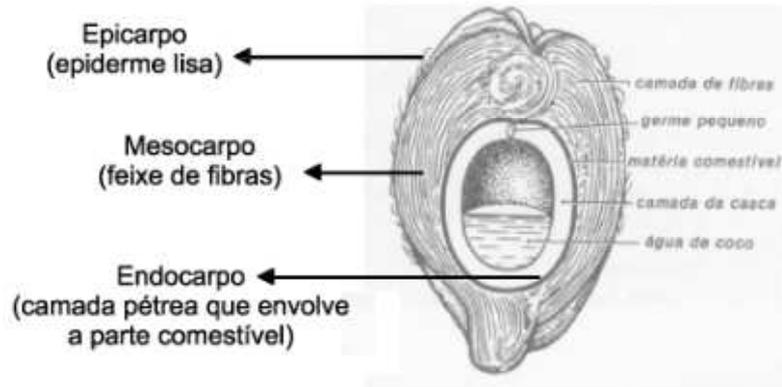


Figura 1 – Corte longitudinal do coco, com as suas partes (ERHARDT et al., 1976; FERREIRA et al., 1998).

Santos (2002), citou que as fibras do coco se caracterizam pela sua dureza e durabilidade, atribuídas ao alto teor de lignina, em comparação com outras fibras naturais. As fibras do coco têm sido vastamente utilizadas na indústria têxtil como na fabricação de estofamento, almofadas como também na confecção de chapas para isolamento termo acústico (DE SOUZA, 2015).

O fruto de *C. nucifera* L. é utilizado na indústria alimentícia e como medicina popular, em diferentes países, para o tratamento de várias doenças (LIMA et al, 2015). O óleo é utilizado na indústria de cosméticos, extraído da copra seca; a fibra é utilizada para a produção de tapetes, colchões, pincéis, vassouras e bolsas; a casca de coco é utilizada para fazer diferentes utensílios como canecas, colheres, vasos, etc., assim como para fazer carvão ativado de alta qualidade (PINO, 2005).

2.3.1 *Uso na medicina popular*

O uso medicinal de *Cocos nucifera* L. varia entre os países, no Brasil é preparado um chá com a fibra da casca do fruto para o tratamento da diarreia, já no Haiti e Trindade, a mesma preparação é utilizada para amenorreia e tratamento de doenças venéreas, respectivamente. Em Papua Nova Guiné, o chá da raiz de *C. nucifera* L. é utilizado para diarreia e dores estomacais (LIMA et al, 2015). Koschek et al observaram em seu estudo uma ótima atividade citotóxica da fibra da casca do fruto de *C. nucifera* L. Na Guatemala, o extrato de fibra de casca é utilizado como antipirético, para reduzir a inflamação renal e como pomada tópica para dermatite, abscessos e lesões.

Todas as pesquisas feitas no campo etnobotânico indicam e apontam a importância de mais pesquisas relacionadas às propriedades farmacológicas dessa espécie vegetal, levando

assim a possibilidade de desenvolvimento de novos medicamentos de baixo custo, facilitando a adesão dos pacientes ao tratamento.

2.3.2 Atividade biológica

A partir de diferentes extratos de *Cocos nucifera* L., foram descritas atividades biológicas com propriedades antiulcerogênicas (NNELI, 2008), antioxidantes, antimicrobianas (CHAKRABORTY,2007), anti-helmínticas (OLIVEIRA et al ,2009), antineoplásicas (KOSCHEK, 2007) e antiviral (ESQUENAZI, 2002.). Honorato (2016), pesquisou sobre o efeito antiviral de extratos de *Cocos nucifera* L. isolando uma substância na qual se mostrou eficaz.

Estudos fitoquímicos foram realizados para a identificação dos responsáveis pela atividade biológica. Extratos etanólicos do mesocarpo revelam a presença de fenóis, taninos, alcaloides, leucoantocianidinas, flavonoides, triterpenos, esteroides e alcaloides, enquanto que o extrato butanólico aponta para a presença de triterpenos, saponinas e taninos condensados, no extrato metanólico foram deduzidas estruturas como ácido 5-O-cazoilquínico (ácido clorogénico), ácido dicafeoilquínico e três isômeros tentativos do ácido cafeoil-shikímico (LIMA ET AL, 2015; CHAKRABORTY,2007). A catequina e a epicatequina juntamente com taninos condensados (procianidinas de tipo B) foram demonstradas como os componentes do extrato aquoso (ESQUENAZI, 2002)

Não foram encontrados estudos em relação ao extrato glicólico, o que incentivou a pesquisa com o extrato neste trabalho.

2.4 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus é uma bactéria gram-positiva fermentadora de glicose pertencente à família *Micrococcaceae*, e possuem forma de cocos e se posicionam em formato de cachos, tendo temperatura ótima para crescimento entre 35°C e 37°C. Dentre cerca de 30 espécies do gênero *Staphylococcus*, o *S. aureus* é um patógeno em potencial e pode ser encontrado na região da orofaringe e pele como parte da microbiota normal (SANTOS et al, 2007). Tem como algumas das características, crescer em elevado teor de NaCl, ser coagulase, catalase e DNase positivo, como também ser fermentador de manitol, testes utilizados na identificação dessa espécie.

Devido ao fato da colonização do *S. aureus* na região nasal ser desprovida de sintomas, o portador pode contaminar suas próprias mão e passar a ser um potencial veículo de transferência da bactéria, no mecanismo de infecções por contato. Isso é de grande

importância já que por sua vez, pacientes debilitados imunologicamente pode vir a desencadear uma infecção a partir desse contato.

A importância de estudos sobre atividade antimicrobiana de *S. aureus* se dá pelo elevado índice de patologias associadas a essa bactéria, podendo causar diversos processos, desde um furúnculo até complicações mais graves como pneumonia, meningite e septicemia. (PIRES et al, 2015)

Com relação à pele, sabe-se que a pele íntegra possui em sua flora fatores que contribuem para a resistência contra infecções por microrganismos patógenos, porém é grande o número de infecções de pele e tecidos moles causadas pelo *S. aureus*, que demonstram patogenicidade na presença de um distúrbio na integridade, sendo frequentemente isolado de feridas cirúrgicas, podendo representar focos para desenvolvimento de infecções sistêmicas (SANTOS, 2007).

3 METODOLOGIA

3.1 Local de Realização da Parte Experimental

A manipulação dos extratos obtidos a partir da espécie vegetal *Cocos nucifera L.* foi realizada no Laboratório de Farmacotécnica Fitoterápica do Curso de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB.

Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados no Laboratório de Microbiologia Clínica da Universidade Estadual da Paraíba - LAC/UEPB.

3.2 Material vegetal

A espécie foi coletada na Comunidade Caiana dos Mares, localizada na zona rural do município de Alagoa Grande, microrregião do brejo paraibano, distando aproximadamente 12 km do centro da cidade.

A espécie foi exsiccada e posteriormente depositada no Herbário Lauro Xavier na Universidade Federal da Paraíba – UFPB, Joao Pessoa, sendo descrita e identificada, recebendo número de voucher no sistema do Herbário (TOLKE, 2014).

3.3 Obtenção dos extratos hidroalcoólicos e glicólicos

3.3.1 Solvente

A escolha de um solvente depende do que se pretende fazer com o extrato. No caso desta pesquisa, como o interesse será conhecer a atividade antimicrobiana, selecionou-se o álcool etílico hidratado, nas concentrações de 30% e 70%, além do propilenoglicol a 60%. A escolha destes solventes decorreram em virtude de sua baixa toxicidade de modo que, não inibem os bioensaios, bem como o bom desempenho no processo extrativo e boa viabilidade econômica.

3.3.2 Preparação dos Extratos

Os extratos hidroalcoólicos e glicólicos foram obtidos segundo a Farmacopéia Brasileira 2ª ed (1959).

Os procedimentos técnicos para preparação dos extratos são apresentados na figura abaixo:

Figura 2 - Fluxograma dos procedimentos técnicos para a preparação dos extratos hidroalcoólicos:

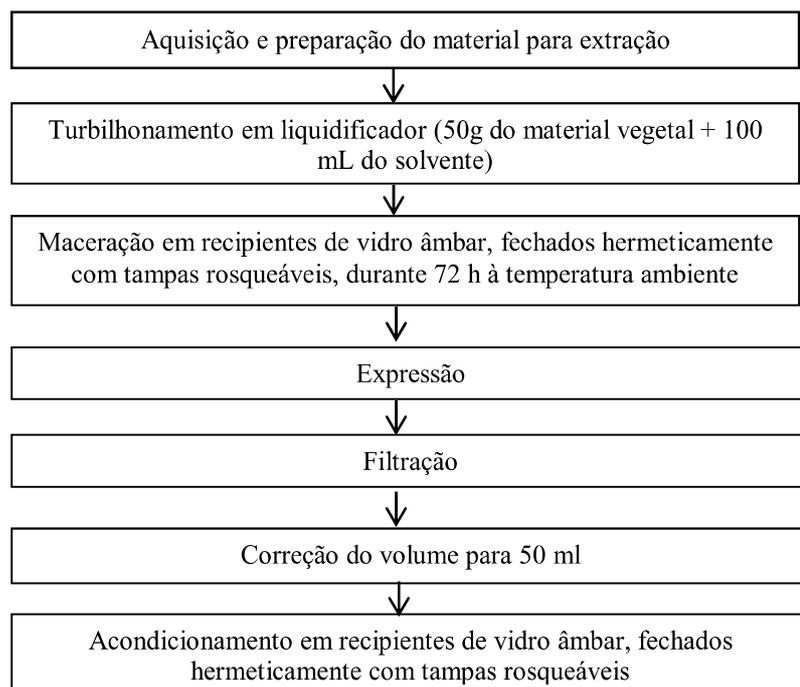
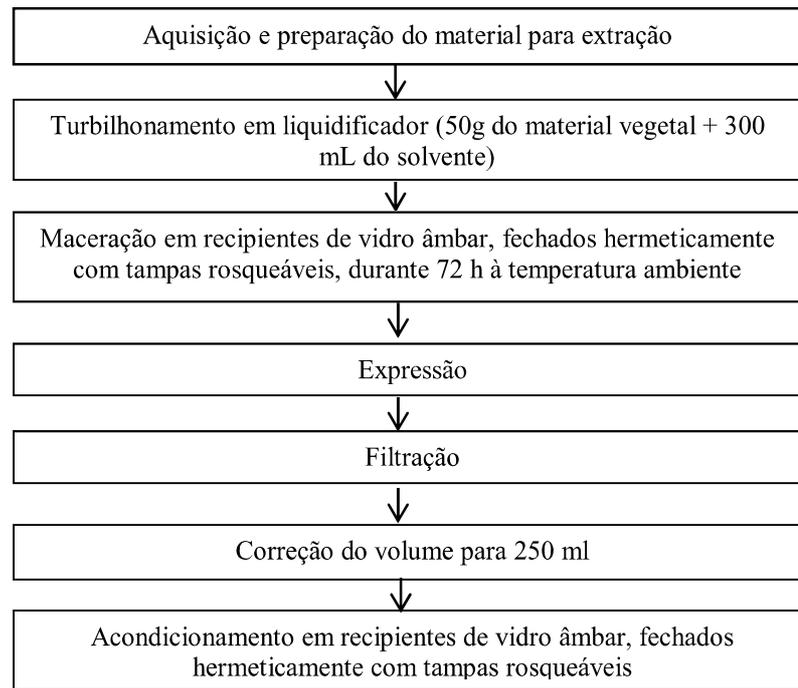


Figura 3 - Fluxograma dos procedimentos técnicos para a preparação do extrato glicólico:



3.4 Procedimentos microbiológicos

3.4.1 *Microrganismos testados*

Foram utilizadas 15 cepas de *Staphylococcus aureus* obtidas do estoque bacteriológico do laboratório de Microbiologia Clínica da UEPB e a cepa padrão – *American Type Culture Collection* (ATCC 25923.)

3.4.2 *Meios de cultura*

Para os ensaios foram utilizados os meios Agar Müeller-Hinton (AMH), caldo Brain Heart Infusion (BHI) e Agar Manitol Salgado (AMS). Os meios de cultura, todos da DIFCO Laboratories LTDA/ Detroit, foram preparados conforme as instruções do fabricante, seguindo a distribuição de 20mL do AMH e AMS em placas de Petri descartáveis de 90x15mm de diâmetro para os meios em placa, e de 3 ml em cada tubo para o caldo BHI.

3.4.3 *Suspensão microbiana e inóculo*

Antes da realização dos ensaios, as cepas bacterianas foram mantidas em meio Agar Müeller-Hinton, repicadas para caldo *Brain Heart Infusion* – BHI e incubadas a 37°C/24

horas. Após este período, foram realizados os semeios pela técnica de estrias em placas de Ágar Manitol Salgado, que também foram incubadas a 37°C/24 horas, a fim de conferir a pureza das cepas. Para a obtenção do inóculo foram selecionadas 3 a 5 colônias semelhantes as quais foram transferidas para 3,0mL de solução fisiológica de modo a produzir uma leve turvação, de densidade visualmente equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland, obtendo-se assim um inóculo de concentração aproximada de 10⁶UFC/mL. Essa suspensão foi semeada no tempo máximo de 15 a 20 minutos após sua preparação (BAUER *et al.*, 1966; DRUTZ, 1987; CLEELAND; SQUIRES, 1991; NCCLS, 2000). Cada tubo e placa foi identificado com o número designado para cada cepa.

3.4.4 Técnica de Difusão em Meio Sólido

Para a realização dos ensaios de atividade antimicrobiana - *screening* foi usado o método de difusão em meio sólido, processo cavidade-placa conforme os protocolos de Bauer *et al.*, (1966); Cleeland; Squires (1991); NCCLS (2002).

Para realização do teste de difusão, foram utilizadas placas de Petri (90x15 mm) descartáveis, estéreis, contendo 20mL do meio de cultura Agar Müller-Hinton, que foram inoculadas pela técnica de espalhamento em superfície (BAUER *et al.*, 1966; NCCLS, 2002), com auxílio de "swabs" estéreis mergulhados na suspensão, eliminando-se o excesso de líquido por pressão nas paredes do tubo. O inóculo foi semeado em toda a superfície do meio, de modo a se obter um crescimento uniforme e semi-confluyente.

As placas foram colocadas para secar, durante 3 a 5 minutos, antes de se fazer as cavidades de 6 mm cada, com o auxílio de perfuradores descartáveis estéreis. Em cada cavidade foram adicionados 50µL dos extratos em suas concentrações iniciais, para verificar a presença ou não de atividade antimicrobiana (ARRUDA, 2007). Todo o sistema do ensaio foi incubado a 37°C por 24 horas. Decorrido o tempo de incubação, foram feitas as leituras e interpretação dos resultados. Foi considerado positivo o produto que inibiu o crescimento microbiano produzindo halos de inibição igual ou superior a 10 mm de diâmetro. Cada ensaio foi realizado em duplicata, para cada cepa selecionada. O resultado final foi determinado pela média aritmética do tamanho (mm) dos halos de inibição, dos valores obtidos nos dois ensaios (ARRUDA, 2007; WONG-LEUNG, 1988).

3.4.5 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Os testes para a determinação da CIM e da CBM, foram realizados por difusão

em meio sólido, processo cavidade-placa conforme os protocolos de Bauer et al., (1966); Cleeland; Squires (1991); CLSI (2008).

As placas de Petri (90x15 mm), contendo 20mL do meio de cultura Agar Müeller-Hinton, foram inoculadas pela técnica de espalhamento em superfície, com auxílio de "swabs" estéreis mergulhados na suspensão bacteriana para retirar o inóculo. Em cada placa foram feitas cavidades, de 6 mm de diâmetro, com o auxílio de perfuradores descartáveis estéreis. Nesses orifícios foram colocados 50µL dos produtos, que foram diluídos no solvente utilizado na sua preparação (álcool 30%. álcool 70% e propilenoglicol 60%) nas concentrações de 50%, 25%, 12,50%, 6,25%, para verificar a presença ou não de atividade antimicrobiana. As placas foram incubadas à 37°C por 24 horas e após este período, foram medidas, as zonas de inibição, em milímetros. Cada ensaio foi realizado em duplicata, para cada cepa selecionada. O resultado final foi determinado pela média aritmética do tamanho dos halos de inibição (mm) dos valores obtidos nos dois ensaios.

A CIM foi considerada como a menor concentração do produto que inibir o crescimento visível dos microrganismos após 24h/37°C de incubação. A CBM foi considerada como a concentração do produto imediatamente anterior à da CIM (CLINICAL MICROBIOLOGY PROCEDURES HANDBOOK, 1992; NCCLS, 2000).

Em todos os testes de atividade antimicrobiana frente aos extratos testados, foram realizados testes controle dos solventes. Para isso, os solventes utilizados foram colocados em cavidades das placas de Petri contendo o Ágar Mueller-Hinton e o inóculo bacteriano a fim de comprovar a ausência de contaminação dos mesmos e influência dos solventes nos extratos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A busca por alternativas naturais em meio a grande evolução e desenvolvimento de antimicrobianos sintéticos impulsiona a pesquisa pela descoberta de novos aliados ao tratamento de infecções, devido à resistência que as bactérias vem adquirindo.

Apresenta-se na Tabela 3 os resultados da atividade dos extratos brutos em relação as cepas testadas. Para cada cepa, os testes foram feitos em duplicata e, os valores mostrados abaixo foram calculados a partir da média dos valores obtidos.

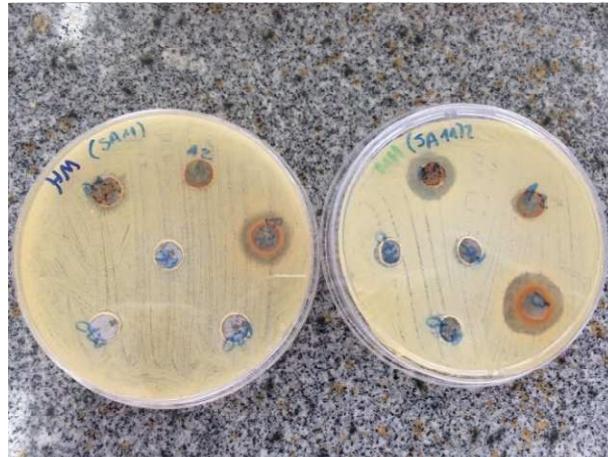
Os resultados obtidos mostraram que dentre as 16 cepas testadas, 15 foram sensíveis ao extrato glicólico de *Cocos nucifera* L., e apenas 4 ao extrato hidroalcoólico a 30%. A cepa de número 11 (Figura 2) apresentou maior sensibilidade aos dois extratos (17 mm e 15 mm) entretanto a cepa de número 7 não apresentou sensibilidade em nenhum dos extratos testados. O extrato hidroalcoólico a 70% não apresentou, nessas condições elencadas acima, atividade observável em nenhuma estirpe de *S. aureus* testada.

Tabela 1: Screening de atividade antibacteriana de extratos puros de *Cocos nucifera* L. em cepas de *S. aureus* a partir da técnica de cavidade-placa em meio sólido.

Cepas	Extratos		
	A1	A2	B
SA1	-	-	13 mm
SA2	12 mm	-	16 mm
SA3	-	-	10,5 mm
SA4	-	-	12 mm
SA5	-	-	11,5 mm
SA6	-	-	11 mm
SA7	-	-	-
SA8	12 mm	-	16 mm
SA9	-	-	11,5 mm
SA10	-	-	14 mm
SA11	15 mm	-	17 mm
SA12	-	-	16 mm
SA13	-	-	16 mm
SA14	-	-	13,5 mm
SA15	-	-	12 mm
SA ATCC	10 mm	-	16 mm

(SA- *Staphylococcus aureus*; A1 – Extrato hidroalcoólico a 30%; A2 – Extrato hidroalcoólico a 70%; B – Extrato glicólico 60%) **Fonte: Dados da pesquisa**

Figura 4 – Comportamento da cepa de *S. aureus* (número 11) em relação ao extrato glicólico bruto.



Fonte: Dados da pesquisa

Almeida et al, 2012, descreveu em seus resultados que o óleo do coco também apresentou atividade antimicrobiana em cepas de *S. aureus*, porém a média dos halos foi inferior aos halos obtidos neste estudo. Apesar dos estudos serem frutos de extratos diferentes, o autor delegou ao ácido láurico e cáprico presente no *C. nucifera* L. essa ação.

Chakraborty & Mitra, 2008, pesquisaram a atividade do extrato metanólico da fibra da casca do fruto de *C. nucifera* L. e encontraram uma potente atividade anti-*Staphylococcus*, propondo serem o 5-O-cafeolquinico, ácido dicafeolquinico e três isômeros do ácido cafeolchiquímico os responsáveis por essas atividades.

Levando em consideração que foram reconhecidas como resultado positivo aqueles extratos que apresentaram halo de inibição maior que 10 mm, realizou-se a diluição dos extratos considerados eficazes, nas concentrações 50%, 25%, 12,5% e 6,25%, e testou-se na mesma técnica. Observou-se que nenhum dos extratos diluídos apresentou atividade antimicrobiana, confirmando que apenas o extrato bruto obteve ação contra às cepas de *S. aureus* para esta pesquisa.

Figura 5 - Imagem mostrando que não houve halo de inibição na diluição. A cepa representada acima é a número 8, no extrato glicólico e hidroalcoólico 30%.



Fonte: Dados da pesquisa

De acordo com Esquenazi et al (2002), o extrato aquoso da fibra do coco demonstrou atividade antimicrobiana em *S. aureus*. Conforme a atividade verificada, o extrato foi analisado em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), onde pôde-se obter cinco frações, sendo apenas uma delas a mais eficaz. O autor justifica esse resultado devido a maior concentração de catequinas e procianidinas do tipo B nessa fração, o que pode ser relacionado com o resultado apresentado na Tabela 1 sobre o extrato hidroalcoólico a 30%, onde o solvente tem maior parte composta de água, podendo pressupor que neste extrato testado a atividade exibida foi associada a porção aquosa.

A técnica escolhida para a avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana do extrato vegetal de *C. nucifera* L. foi a técnica de poço-difusão, técnica esta que, segundo Silveira et al (2009) se apresentaria mais sensível para determinação antimicrobiana de extratos vegetais comparada à técnica do disco.

Devido à escassez de estudos relacionados à atividade antimicrobiana do extrato glicólico da fibra da casca de *C. nucifera* L., ainda não se sabe o responsável pela sensibilidade das cepas testadas, mas pode-se acreditar que essa atividade também esteja relacionada aos componentes acima citado, porém apenas estudos aprofundados como os fitoquímicos realizados especificamente com o extrato bruto glicólico a 60% pode confirmar de fato.

5 CONCLUSÃO E SUGESTÕES

Com o aumento comprovado da utilização dos fitoterápicos nos últimos anos e, considerando que juntamente com isso, as informações relacionadas as plantas medicinais e suas possíveis ações terapêuticas cheguem à população, pode-se garantir maior acessibilidade a esses medicamentos de forma segura e racional.

No combate aos microrganismos patógenos, se faz necessário sempre que novos estudos sejam elaborados devido à grande capacidade que as bactérias têm de se tornarem resistentes.

A pesquisa realizada comprovou a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico 30% e extrato glicólico 60% de *Cocos nucifera* L., ambos em sua concentração máxima. Os extratos diluídos não apresentaram atividade satisfatória para as cepas utilizadas na pesquisa.

Embora a maioria das cepas de *S. aureus* testadas não tenham sido inibidas frente aos extratos avaliados observou-se, em algumas delas, sua inibição, em especial ao extrato glicólico, porém estes dados preliminares nos desperta a necessidade de outras pesquisas capazes de avaliar o efeito dos extratos, bem como suas frações, para futuramente considerar formulações e doses adequadas para utilização em seres humanos e novos testes em diferentes bactérias, planejando um futuro aliado no tratamento antimicrobiano.

NOGUEIRA, P. L. ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF EXTRACTS OF *Cocos nucifera* L. IN FRONT OF *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

The use of medicinal plants for the treatment, cure and prevention of diseases is one of the oldest customs of mankind's medicinal practice. Phytotherapy is the study of its applications in the cure, prevention, attenuation or treatment of a pathological state. Currently, plants have been gaining increasing space in routine treatments, facilitating patient compliance. According to a previous ethnobotanical study carried out in the Caiana dos Mares, PB community, the fruit fiber of *Cocos nucifera* L. (Coconut) is used in preparations used to wash wounds. This study aimed to verify the antibacterial activity of hydroalcoholic and glycolic extracts of coconut. Hydroalcoholic extracts at 30% and 70% concentrations and 60% glycolic extract were prepared by solid-media diffusion technique (cavity-plate process). *Staphylococcus aureus* strains were tested. Screening showed antibacterial activity in two extracts (30% and 60%). After dilution, the extracts did not inhibit any strain. Results such as these, propose that future studies be carried out with the intention of knowing those responsible for the antimicrobial action of extracts that were active against *S. aureus*. From these new assays, in different bacteria, one can have a future ally in antimicrobial treatment.

Keywords: Tropical flora; Phytotherapy; Antibacterial activity

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L. C. T. et al. **Potential antimicrobial coconut oil in the treatment of wounds.** in: Revista Rede de Enfermagem Do Nordeste, v. 13, n 4 (2012): p.880-7.

Alves A. R.; Silva M. J. P.; **O uso da fitoterapia no cuidado de crianças com até cinco anos em área central e periférica da cidade de São Paulo.** Revista Escola de Enfermagem, USP. 2003; 37(4):85-91.

Bauer, A.W. et al. **Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method.** *Am. J. Clin. Microbiol.*, 40: 2413-5, 1966.

BRASIL. **Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006.** Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2006/Decreto/D5813.htm. Acesso em: 05 de abril de 2017.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Uso de plantas medicinais e fitoterápicos sobe 161%** (2016). Disponível em: brasil.gov.br. Acessado em: 15 de março de 2017.

BRUNING, Maria Cecília Ribeiro; MOSEGUI, Gabriela Bittencourt Gonzalez; VIANNA, Cid Manso de Melo. **A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu - Paraná: a visão dos profissionais de saúde.** *Ciênc. saúde coletiva*, Rio de Janeiro, v. 17, n. 10, p. 2675-2685, Out. 2012.

CACERES, A.; et al. **Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases.** *J Ethnopharmacol* 1987; 20: 223–237, doi: 10.1016/0378-8741(87)90050-X.

CHAKRABORTY, Moumita; ADINPUNYA, Mitra. **The antioxidant and antimicrobial properties of the methanolic extract from *Cocos nucifera* mesocarp.** *Food Chemistry*, Volume 107, Issue 3, 1 April 2008, Pages 994–999, 2007.

Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighteenth Informational Supplement.** CLSI Publication M100-S18, Vol. 28, No. 1. Wayne, PA: CLSI; 2008.

Clinical Microbiology Procedures Handbook. Washington: ASM Press; 1992.

Cleeland L, Squires E 1991. **Evaluation of new antimicrobials *in vitro* and experimental animal infections.** In: Lorian VMD. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Baltimore: Williams & Wilkins, p.739-788.

DE SOUZA, Emilye Stephane et al. **Aplicação da fibra de coco no processo de isolamento termo acústico.** Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental, [S.l.], v. 4, p. p. 233-245, dez. 2015. ISSN 2238-8753.

DRUTZ , D. J. **In vitro antifungal susceptibility testing and measurement of levels of antifungal agents in body fluids.** Rev. Infect Dis., Chicago, v. 9, n. 2, p. 392-397, 1987.

ELISABETSKY, E.; SOUZA, G. C. de. **Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas.** Farmacognosia: da planta ao medicamento, v. 2, p. 87-99, 2004.

ESQUENAZI, Daniele et al. **Antimicrobial and antiviral activities of polyphenolics from *Cocos nucifera* Linn. (Palmae) husk fiber extract.** Research in Microbiology, v.153, Issue 10, Pages 647-652, 2002.

FARMACOPÉIA Brasileira. 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 1959.

FIGUEIRA, Cristiane do Nascimento Tavares. Avaliação da atividade antimicrobiana, citotóxica e capacidade sequestradora de radicais livres de extratos brutos de *Cocos nucifera* L. 2012. 122 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Enfermagem, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2012.

HONORATO, Fernando Borges. Efeito in vitro de extratos de *Cocos nucifera* L. sobre herpes simplex virus em cultura de células. 2016. Dissertação (Mestrado em Saúde da Criança e do Adolescente) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

KOSCHEK, P.R. et al . The husk fiber of *Cocos nucifera* L. (Palmae) is a source of anti-neoplastic activity. **Braz J Med Biol Res**, Ribeirão Preto , v. 40, n. 10, p. 1339-1343, Oct. 2007 .

LIMA, E.B.C. et al. ***Cocos nucifera* (L.) (Arecaceae): A phytochemical and pharmacological review.** Braz J Med Biol Res, [s.l.], v. 48, n. 11, p.953-964, nov. 2015.

MACIEL, M. A. M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. Química Nova, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MIRANDA, Gilson S. et al. **Avaliação do conhecimento etnofarmacológico da população de Teixeira - MG, Brasil.** Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, Viçosa, v. 4, n. 34, p.559-563, 2013.

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests.* Approved standards M7-A5. Wayne, PA, 2000.

NNELI, R. O. and Woyike, O. A., **Antiulcerogenic effects of coconut (*Cocos nucifera*) extract in rats.** Phytother. Res., 22: 970–972. 2008.

NEWMAN, D. J.; Cragg, G. M.; Snader, M. K. J. **The influence of natural products upon drug discovery.** Nat. Prod. Rep. 2000, 17, 215–234.

OLIVEIRA, L.M.B. et al. **Anthelmintic activity of *Cocos nucifera* L. against sheep gastrointestinal nematodes.** Veterinary Parasitology, v. 159, Issue 1, Pages 55–59. 2009.

PINO, Gabriela Alejandra Huamán. **Biossorção de Metais Pesados Utilizando Pó da Casca de Coco Verde (*Cocos nucifera*).** 2005. 113 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Metalúrgica, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

PIRES, Carla Avelar et al. **Infecções bacterianas primárias da pele: perfil dos casos atendidos em um serviço de dermatologia na Região Amazônica, Brasil.** Rev Pan-Amaz Saude, Ananindeua, v. 6, n. 2, p. 45-50, jun. 2015.

POLÍTICA NACIONAL DE PLANTAS E MEDICAMENTOS FITOTERÁPICOS. (DECRETO Nº 5813)

SANTOS, André Luis dos et al. ***Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar.** J. Bras. Patol. Med. Lab., Rio de Janeiro, v. 43, n.6, p. 413-423, Dec, 2007.

SARAIVA, Sarah R. G. L. et al. **A implantação do programa de plantas medicinais e fitoterápicos no sistema público de saúde no Brasil: Uma revisão de literatura.** Rev. Interdis. de Pesq. e Inov. v.1, n.1, 2015.

SILVEIRA LMS, Gallegos Olea RS, Mesquita JS, Cruz ALN, Mendes, JC. **Metodologias de atividade antimicrobiana aplicadas a estratos de plantas: comparação entre duas técnicas de ágar difusão.** Revista Brasileira de Farmácia 2009; 90(2): 124-128.

SILVEIRA, P. F. da; BANDEIRA, M. A. M.; ARRAIS, Paulo S. D. **Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 18, n. 4, p. 618-626, 2008.

TOLKE, Elisabeth Emilia Augusta Dantas. Estudo etnobotânico de plantas medicinais na comunidade Caiana dos Mares, Alagoa Grande, PB. 2014. Monografia – Universidade Estadual da Paraíba, Paraíba.

WONG-LEUNG, Y. L. **Antibacterial activities of some Hong Kong plants used in Chinese medicine.** Fitoterapia, v. 69, n. 1, p. 11-16, 1988.